

**HİDROLİZE VIŞNE ÇEKİRDEĞİ İÇİ PROTEİN  
KONSANTRELERİNİN BAZI KİMYASAL VE  
FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**Ali CİNGÖZ**

**Yüksek Lisans Tezi  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı  
Danışman:  
Prof. Dr. Metin YILDIRIM  
2012  
Her hakkı saklıdır**

T.C.  
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Y. LİSANS TEZİ

HİDROLİZE VIŞNE ÇEKİRDEĞİ İÇİ PROTEİN  
KONSANTRELERİNİN BAZI KİMYASAL VE FONKSİYONEL  
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Ali CİNGÖZ

TOKAT  
2012

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Metin YILDIRIM danışmanlığında, Ali CİNGÖZ tarafından hazırlanan bu çalışma 20/01/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/~~oy çokluğu~~ ile Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof Dr. Metin YILDIRIM

İmza:



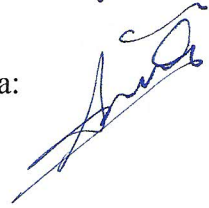
Üye : Yrd. Doç. Dr. K. Savaş BAHÇECİ

İmza:



Üye : Yrd. Doç. Dr. Ayşe ÖZBEY

İmza:



Yukarıdaki sonucu onaylarım



Doç. Dr. Naim ÇAGMAN

Enstitü Müdürü

24./01./2012



## TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Ali CİNGÖZ



## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### HİDROLİZE VIŞNE ÇEKİRDEĞİ İÇİ PROTEİN KONSANTRELERİNİN BAZI KİMYASAL VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Ali Cingöz

Gaziosmanpaşa Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Metin YILDIRIM

Bu çalışmada, vişne çekirdeği içi protein konsantrisinin Alcalase 2.4L enzimi ile farklı düzeylerde hidrolize edilmesiyle hazırlanan protein hidrolizatlarının bazı kimyasal ve fonksiyonel nitelikleri incelenmiştir.

Vişne çekirdeği içi protein konsantrisi Alcalase enzimi ile 55°C’de ve pH 8,0’de %5, %10 ve %15 düzeylerinde hidrolize edilmiştir. Hazırlanan hidrolizatların bazı kimyasal nitelikleri ile sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca protein çözünürlüğü, su tutma kapasitesi, yağ tutma kapasitesi, minimum jel oluşturan konsantrasyonu, emülsiyon aktivite indeksi, emülsiyon stabilite indeksi, köpük kapasitesi ve köpük stabilitesi de belirlenmiştir.

Protein konsantrinden hazırlanan hidrolizatlar %93,8-94,9 kurumadde, %10,0-10,5 toplam karbonhidrat, %2,5-3,1 yağ, %70,1-73,9 protein ve %7,8-10,0 kül içermiştir. Alcalase enzimi ile hidroliz, protein çözünürlüğünü incelenen pH 1,0-12,0 değerlerinde arttırmıştır. Protein konsantrisi ve hidrolizatlarının su tutma kapasiteleri 2,03-2,84 g su/g örnek ve yağ tutma kapasiteleri 1,64-1,76 g yağ/g örnek arasında değişim göstermiştir. Protein konsantrisi ve hidrolizatlarının köpük kapasiteleri %17,5-25,0, köpük stabilite (30 dakika sonraki) %14,1-85,4, emülsiyon aktivite indeksleri 21,45-29,62 m<sup>2</sup>/g ve emülsiyon stabilite indeksleri 55,00-177,22 dakika aralığında değişmiştir. Protein konsantrisinin minimum jel oluşturan konsantrasyon değeri hidrolizasyon sonucunda %10’dan %11’e yükselmiştir. Protein konsantrisinin farklı düzeylerde hidrolizasyona maruz bırakılması elektroforetogramda yaklaşık aynı protein bantlarına yol açmıştır. Alcalase enzimi ile hidrolize edilen protein konsantrisinin protein çözünürlüğünün iyileştiği, ancak emülsifikasyon, köpürme, su tutma, yağ tutma ve jel oluşturma özelliklerinde önemli bir gelişmenin sağlanmadığı tespit edilmiştir.

**2012, 52 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Vişne çekirdeği içi proteini konsantrisi, Alcalase, hidroliz, fonksiyonel özellikler.

## ABSTRACT

Masters Thesis

### INVESTIGATION OF SOME CHEMICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF HYDROLYZED SOUR CHERRY KERNEL PROTEIN CONCENTRATE

Ali Cingöz

Gaziosmanpaşa University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Metin YILDIRIM

In this study, some chemical and functional properties of protein hydrolysates prepared from sour cherry kernel protein concentrates using Alcalase 2.4L with different degrees of hydrolysis were investigated.

Sour cherry kernel protein concentrate was hydrolyzed by Alcalase at 55°C and pH 8,0 to a degree of hydrolysis of 5%, 10% or 15%. Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis and some chemical analyses of the resulting hydrolysates were performed. In addition, solubility, water holding capacity, oil holding capacity, emulsifying activity index, emulsifying stability index, foaming capacity, foaming stability and the least gelling concentration of the hydrolysates were investigated.

The hydrolysates contained 93.8-94.9% dry matter, 10.0-10.5% total carbohydrate, 2.5-3.1% fat, 70.1-73.9% protein, and 7.8-10.0% ash. Hydrolysis of protein concentrate by Alcalase increased the protein solubility at pH 1.0-12.0. Water and oil holding capacities of protein concentrate and hydrolysates were in the range of 2.03 g water/g to 2.84 g water/g and of 1.64 g oil/g to 1.76 g oil/g, respectively. The protein concentrate and hydrolysates had foaming capacities ranged between 17.5% and 25.0%, foaming stabilities (after 30 minutes) ranged between 14.1% and 85.4%, emulsion activity indices ranged between 21.45 m<sup>2</sup>/g and 29.62 m<sup>2</sup>/g, and emulsion stability indices ranged between 55.00 minutes and 177.22 minutes. After hydrolyzation, the least gelling concentration of the protein concentrate increased from 10% to 11%. Hydrolysates with different degrees of hydrolysis showed almost similar protein bands on the electrophoretogram. Hydrolysis of protein concentrate with Alcalase improved protein solubility. However, no improvement was obtained in water holding capacity, oil holding capacity, emulsifying activity index, emulsifying stability index, foaming capacity, foaming stability and the least gelling concentration by hydrolysis.

**2012, 52 pages**

**Keywords:** Sour cherry kernel protein concentrate, Alcalase, hydrolysis, functional properties

## TEŞEKKÜR

Tezimin konusunun belirlenmesinde ve tezin başından sonuna kadar yazılmasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Metin YILDIRIM'a,

Tezin değerlendirilmesinde değerli katkılar sunan Sayın Yrd. Doç. Dr. K.Savaş BAHÇECİ ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Ayşe ÖZBEY'e

Her zaman yanımda olup desteklerini hiğ esirgemeyen eşim şeyda CİNGÖZ'e sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

|   | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| ÖZET .....  | i            |
| ABSTRACT .....  | ii           |
| TEŞEKKÜR .....  | iii          |
| İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....  | iv           |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....   | vii          |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....  | viii         |
| <b>1. GİRİŞ</b> .....   | <b>1</b>     |
| <b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....   | <b>4</b>     |
| 2.1. Vişne Meyve ve Çekirdeklerinin Özellikleri .....   | 4            |
| 2.1.1. Vişne Meyvesi.....   | 4            |
| 2.1.2. Vişne Çekirdeği.....   | 5            |
| 2.2. Proteinler ve Hidrolizatlarının Fonksiyonel Özellikleri .....                                | 7            |
| 2.2.1. Proteinler .....   | 7            |
| 2.2.2. Hidrolizatlar .....  | 10           |
| <b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>   | <b>15</b>    |
| 3.1. Materyal.....  | 15           |
| 3.2. Yöntem .....   | 15           |
| 3.2.1. Vişne Çekirdeği İçinden Yağın Uzaklaştırılması.....  | 15           |
| 3.2.2. Vişne Çekirdeği İç Protein Konsantresinin (VÇİPK) Hazırlanması.....                        | 15           |
| 3.2.3. Protein Konsantresinin Hidrolizasyonu.....   | 16           |
| 3.2.4. Vişne Çekirdeği İç Konsantresi ve Hidrolizatlarının Kurumadde<br>Analizleri.....           | 17           |
| 3.2.5. Vişne Çekirdeği İç Konsantresi ve Hidrolizatlarının Yağ Analizleri.....                    | 18           |
| 3.2.6. Vişne Çekirdeği İç Konsantresi ve Hidrolizatlarının Toplam Karbonhidrat<br>Analizleri..... | 18           |

|  |    |
|--|----|
| 3.2.7. Vişne Çekirdeği İçi Konsantresi ve Hidrolizatlarının Protein Analizleri.....  | 20 |
| 3.2.8. Vişne Çekirdeği İçi Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Kül Analizi...   | 20 |
| 3.2.9. Vişne Çekirdeği İçi Konsantresi ve Hidrolizatlarının Renk Değerlerinin Ölçümü.....  | 21 |
| 3.2.10. Vişne Çekirdeği İçi Proteinlerinin Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) ile İncelenmesi..... | 21 |
| 3.2.11. Vişne Çekirdeği İçi Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi.....                | 22 |
| 3.2.11.1. Su ve Yağ Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi.....  | 22 |
| 3.2.11.2. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesinin Belirlenmesi.....   | 23 |
| 3.2.11.3. Emülsiyon Aktivite İndeksi (EAI) ve Emülsiyon Stabilite İndeksinin (ESI) Belirlenmesi.....                             | 24 |
| 3.2.11.4. Minimum Jel Oluşturan Konsantrasyonun (MJOK) Belirlenmesi.....   | 25 |
| 3.2.11.5. Protein Çözünürlüğünün Belirlenmesi.....   | 25 |
| 3.2.12. İstatistiksel Değerlendirme.....   | 26 |
| <b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA</b> .....   | 27 |
| 4.1. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Bileşimi.....  | 27 |
| 4.2. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Renk Değerleri.....  | 29 |
| 4.3. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Fonksiyonel Özellikleri.....   | 31 |
| 4.3.1. Protein Çözünürlüğü.....  | 31 |
| 4.3.2. Su Tutma Kapasitesi.....  | 33 |
| 4.3.3. Yağ Tutma Kapasitesi.....   | 35 |
| 4.3.4. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesi.....  | 36 |
| 4.3.5. Emülsiyon Aktivite İndeksi ve Emülsiyon Stabilite İndeksi.....  | 40 |
| 4.3.6. Minimum Jel Oluşturan Konsantrasyon.....  | 42 |
| 4.3.7. Jel Elektroforezi (SDS-PAGE).....   | 44 |
| <b>5. SONUÇ</b> .....  | 46 |
| <b>6. KAYNAKLAR</b> .....  | 48 |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....  | 52 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

| <u>Çizelge</u>  | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| Çizelge 2.1. Montmorency vişne çeşidinin bileşimi .....   | 5            |
| Çizelge 2.2. Hidrolizatların Hunter renk değerleri.....   | 12           |
| Çizelge 2.3. Yulaf kepeği konsantresi ve hidrolizatlarının fonksiyonel özellikleri.....                         | 13           |
| Çizelge 2.4. Yer fıstığı protein hidrolizatlarının fonksiyonel nitelikleri.....                                 | 14           |
| Çizelge 4.1. Farklı hidroliz derecelerine sahip hidrolizatların bazı kimyasal nitelikleri.....                  | 27           |
| Çizelge 4.2. Protein konsantresi ve hidrolizatlarının renk değerleri.....                                       | 30           |
| Çizelge 4.3. Protein konsantresi ve hidrolizatların 1,0-12,0 pH aralığındaki protein çözünürlüğü.....           | 32           |
| Çizelge 4.4. Protein konsantresi ve hidrolizatlarının su ve yağ tutma kapasiteleri.....                         | 34           |
| Çizelge 4.5. Na-kazeinat, protein konsantresi ve hidrolizatların köpük kapasiteleri.....                        | 38           |
| Çizelge 4.6. Na-kazeinat, protein konsantresi ve hidrolizatların köpük stabiliteleri.....                       | 39           |
| Çizelge 4.7. Protein konsantresi ve hidrolizatlarının emülsiyon aktivite ve emülsiyon stabilite indeksleri..... | 41           |
| Çizelge 4.8. Protein konsantresi ve hidrolizatlarının minimum jel oluşturan konsantrasyonları.....              | 43           |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| <b><u>Şekil</u></b> |   | <b><u>Sayfa</u></b> |
|---------------------|---|---------------------|
| Şekil 3.1.          | Toplam karbonhidrat analizi için hazırlanan kalibrasyon grafiği.....                  | 19                  |
| Şekil 4.1.          | Protein konsantrisinin Alcalase enzimi ile üç farklı seviyede hidrolizi.....          | 28                  |
| Şekil 4.2.          | Protein konsantrisi ve hidrolizatlarının farklı pH değerlerindeki çözünürlükleri..... | 33                  |
| Şekil 4.3.          | Protein konsantrisi ve hidrolizatlarının köpük stabiliteleri.....                     | 39                  |
| Şekil 4.4.          | Protein konsantrisi ve hidrolizatlarının SDS-PAGE elektroforetogramı.....             | 45                  |

## 1. GİRİŞ

Gıda işlemenin değişik aşamalarında çeşitli katı veya sıvı atıklar açığa çıkmaktadır. Kabuk, posa ve çekirdek meyve işleme tesislerinde en fazla karşılaşılan atıklardır. Çevre kirliliği ve gıda yetersizliği gibi kaygılar, atıkların ekonomik ve güvenli bir şekilde geri dönüşümünü sağlayacak yöntemlerin geliştirilmesi ihtiyacını da beraberinde getirmektedir (Kamel ve Kakuda, 1992). Günümüzde bu atıklar; hayvan yemi olarak kullanma, fermantasyon yoluyla tek hücre proteinine dönüştürme, biyoyakıt üretme gibi değişik uygulamalar ile değerlendirilmeye çalışılmaktadır (Kamel ve Kakuda, 1992; Duman ve ark., 2011).

Vişne, gülgiller (*Rosaceae*) familyasının bir üyesi olan vişne ağacından (*Prunus cerasus* L.) elde edilen, ekşi tada sahip bir meyvedir. Sofralıktan daha çok meyve suyu, şurup, reçel, marmelat, komposto ve likör gibi ürünlere işlenerek değerlendirilmektedir. Bu nedenle de önemli miktarlarda çekirdek atığı açığa çıkmaktadır. Kiraz daha çok sofralık olarak kullanıldığından toplu miktarlarda önemli ölçüde kiraz çekirdeği atığı açığa çıkmamaktadır (Iezzoni, 2008). Bu yüzden tüketim sonucunda ortaya çıkan kiraz çekirdeğinin değerlendirilmesinde toplama işlemi önemli bir engel oluşturmaktadır (Kamel ve Kakuda, 1992).

Beş-yedi metreye kadar boylanabilen vişne ağaçlarının anayurdu Anadolu ve Balkanlar'dır. Dört yaşındayken meyve vermeye başlayan ve 40-50 yıl yaşayan vişne ağacının ekonomik ömrü 15-20 yıl ile sınırlıdır. Yuvarlak taçlı ve kiraza göre daha çalimsı görünüşlüdür. Gövdesi kırmızımtırak, gri benekli, donuk ya da parlak renkli olup çiçekleri beyaz renklidir. Temmuz ayı ortalarında olgunlaşmaya başlayan meyveleri, kirazdan biraz basıkçadır. Olgun vişneler, bol sulu ve siyaha yakın kırmızı renklidir (Anonim, 2011a).

Vişne yetiştiriciliği Türkiye'nin bütün bölgelerine yayılmış olmakla beraber, ticari yetiştiricilik uygun iklim koşullarına sahip sınırlı alanlar içerisinde yapılmaktadır. Afyon, Kütahya, Ankara, Isparta, Tokat ve Amasya vişne üretilen başlıca illerimizdir (Anonim, 2011b). 2009 yılı verilerine göre ülkemiz, yıllık 417 694 tonluk vişne üretimi

ile dünyada birinci sırada yer almaktadır (Anonim, 2011c). Üretimimizin bu kadar yüksek olması çekirdek atığının da fazla olması sonucunu doğurmaktadır.

Vişne ve kayısı gibi “*Purunus*” cinsinde yer alan meyvelere ait çekirdeklerin, insan beslenmesinde kullanılabilir protein ve yağ kaynağı olabilecekleri belirtilmiştir. Vişne/kiraz meyvesinin %6,3'lük kısmını çekirdek, çekirdeğin de %26,6'lık kısmını çekirdek içi oluşturmaktadır. Vişne/kiraz çekirdeğinin %6,2 protein, %18,1 karbonhidrat, %14,5 yağ, %60,0 lif ve %1,2 mineral madde içerdiği saptanmıştır. Yüksek oranda protein (yağsız kısmında %31,7, %N x 5,3) ve yağ (%41,9) içermesi nedeniyle çekirdek için insan beslenmesinde kullanılacak protein ve yağ ekstraksiyonu için avantajlı olacağı belirtilmiştir. Aminoasit analizi, vişne/kiraz çekirdeği proteininin metionin aminoasidi açısından fakir olduğunu göstermiştir (Kamel ve Kakuda, 1992).

Bir gıdanın tüketici açısından önem taşıyan fonksiyonel özellikleri, gıdanın besleyici değerinin dışında kalan diğer niteliklerinin tümüdür. Tüketici tercihlerini etkileyen bu nitelikler sırasıyla tekstür, tat-koku, renk ve görünüşdür. Fonksiyonel özellikler sadece son ürünün kalitesini belirlemek açısından değil ayrıca işlenmiş et ürününün dilimlenmesi, bisküvi hamurunun makinelerle taşınabilmesi gibi üretim aşamalarının kolaylaştırılması ve yeni gıda maddelerinin geliştirilmesi açılarından da önemlidir (Singh ve ark., 2008; Ogunwolu ve ark., 2009). Bu nedenlerle proteinler, tat-koku maddelerini taşıma, köpük, emülsiyon, jel ve hamur oluşturma gibi özellikleri ile gıdanın fonksiyonel niteliklerini etkileyen ve/veya belirleyen önemli bileşenlerdir.

Gıda üretiminde kullanılan proteinler kabaca hayvansal kaynaklı (jelatin, kazein vb) ve bitkisel kaynaklı (soya, yer fıstığı vb) proteinler olmak üzere iki grupta toplanabilir. Birçok bitkisel kaynaklı protein, insan beslenmesinde düşük maliyetli protein kaynağı olarak ilgi çekmektedir (Ogunwolu ve ark., 2009). Gelecekte protein kaynaklarında yetersizlik olacağı kaygısıyla 1950'li yıllardan itibaren yeni alternatif protein kaynakları bulmak amacıyla yoğun çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla maya, küf, bakteri ve mikroalg gibi canlılardan protein üretme yolları araştırılmıştır (Becker, 2007).

Vişne çekirdeğinden proteinlerin izole edilmesi ve izole edilen proteince zengin ürünlerin fonksiyonel niteliklerinin belirlenmesine yönelik tek bir çalışmaya rastlanılmıştır (Gedik, 2011). Bu çalışma sonucunda elde edilen vişne çekirdeği protein konsantrasyonunun fonksiyonel niteliklerinin değişik yöntemlerle geliştirilmesine ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir. Proteinlerin fonksiyonel nitelikleri kimyasal veya enzimatik yöntemlerle iyileştirilebilir. Enzimler daha ılımlı şartlarda çalıştılarından proteinlerin fonksiyonel niteliklerinin iyileştirilmesinde öncelikli olarak tercih edilmektedirler (Kristinsson ve Rasco, 2000). Proteolitik enzimler, besin değerinde herhangi bir kayıp oluşturmaksızın kontrollü şartlarda proteinlerin hidrolizini gerçekleştirerek fonksiyonel özelliklerin gelişmesini sağlayabilirler. Enzimatik hidroliz sonucunda proteinlerin molekül boyutu, hidrofobik ve hidrofilik özellikleri etkilenir. Protein hidrolizatının karakteristikleri direkt olarak fonksiyonel özellikleri ve gıdalardaki kullanım şeklini belirler (Panyam ve Kilara, 1996; Kristinsson ve Rasco, 2000). Hidroliz derecesi arttıkça çözünürlük de artmaktadır (Gbogouri ve ark., 2004). Hidroliz derecesi ayrıca emülsifikasyon ve köpürme gibi diğer fonksiyonel nitelikleri de etkilemektedir (Kristinsson ve Rasco, 2000; Gbogouri ve ark., 2004). Ancak yüksek hidroliz dereceleri fonksiyonel özellikleri çok olumsuz etkileyebilmektedir (Kristinsson ve Rasco, 2000). Hidrolize proteinlerin diyet gıdaları, alerjik olmayan bebek mamaları, sporcu içecekleri gibi çok geniş bir uygulama alanı bulunmaktadır (Clemente, 2000).

Novozymes A/S (Bagsvaerd, Danimarka) tarafından satışa sunulan Alcalase 2.4L<sup>®</sup>, *Bacillus licheniformis* tarafından üretilmektedir. Spesifik olmayan bir serin proteazdır ve optimum çalışma pH'sı 6,5-8,5 aralığındadır. Endopeptitaz olan Alcalase birçok proteinin fonksiyonel niteliklerinin iyileştirilmesinde kullanılmıştır (Vioque ve ark., 2000; Klompong ve ark., 2008).

Yapılan kaynak taramalarında vişne çekirdeği içi proteinlerinin hidrolize edilmesini ve oluşan ürünlerin özelliklerinin incelenmesini konu alan herhangi bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle gerçekleştirilen bu çalışmada Alcalase enzimi ile farklı düzeylerde hidrolize edilen vişne çekirdeği içi protein konsantrasyonlarının fonksiyonel nitelikleri incelenmiştir.

## **2. KAYNAK ÖZETLERİ**

Vişne çekirdeği ve çekirdek içinin bileşimini konu alan sınırlı sayıda kaynak bulunmaktadır. Vişne çekirdeği proteinlerinin hidrolizi konusunda ise herhangi bir literatüre rastlanmamıştır. Bu nedenle konu ile doğrudan ilgili olup ulaşılabilen kaynaklar sınırlı kalmıştır.

### **2.1. Vişne Meyve ve Çekirdeklerinin Özellikleri**

#### **2.1.1. Vişne Meyvesi**

Vişne, Çizelge 2.1'de görüldüğü gibi besin maddeleri açısından oldukça zengin bir meyvedir (Iezzoni, 2008). Sanayide kullanılan birkaç çeşit dışında üretilen kirazın hemen hepsi taze olarak tüketilmektedir ve bu nedenle ortaya çıkan çekirdeğin değerlendirilmesinde toplama işlemi önemli bir engel oluşturmaktadır (Kamel ve Kakuda, 1992). Vişne ise meyve suyu randımanının (%70-75) ve toplam asitliğinin (%3, sitrik asit cinsinden) yüksek olması nedeniyle, meyve suyu olarak işlenmeye çok uygundur (Anonim, 2011d). Ayrıca vişne dondurularak, kurutularak, konserve ve reçele işlenerek de değerlendirilebilmektedir (Iezzoni, 2008; Anonim, 2011d).

Vişnenin önemli düzeyde polifenolik maddeler (antosiyantinler ve diğer flavonoidler) ile melatonin alkaloidini içermesi onun sağlık açısından önemli bir meyve olduğuna işaret etmektedir (Kirakosyan ve ark., 2009). Vişnede bulunan antosiyantinlerin antioksidan ve iltihap önleyici olduğu (Wang ve ark. 1999), insan ve hayvan hücrelerinde tümör gelişimini durdurduğu gözlenmiştir (Kang ve ark., 2003). Ayrıca vişne sahip olduğu antioksidanlar sayesinde, damarlarda plak oluşumunu engelleyerek kalp hastalıklarına karşı da koruyucu etki sağlayabilmektedir (Wang ve ark., 1999; Jayaprakasam ve ark., 2005).

Vişne çekirdeği içinin de fenolik maddelerce zengin olduğu belirlenmiştir. Vişne çekirdeği içinin yağı hekzan ile uzaklaştırıldıktan sonra geriye kalan ekstraktın %2-4

siyanid, %1-3 polifenol, %1-4 flavonoid, %1-2 proantosiyandin ve antosiyandin, %1 trans resveratrol ve %1 kateşin gibi biyoaktif bileşimler içerdiği bildirilmiştir. Bu ekstraktın farelerin beslenmesinde 14 gün süreyle kullanılması (10-30 mg/kg gün), farelerden uzaklaştırılan kalplerin yeniden işlev (kan akışı, basınç oluşturma) yapmasını önemli ölçüde iyileştirdiği saptanmıştır (Bak ve ark., 2006).

Vişne/kiraz meyvesinin %6,3±1,3'lük kısmını çekirdeğin; çekirdeğin de %26,6±9,7'lik kısmını çekirdek içinin oluşturduğu belirlenmiştir (Kamel ve Kakuda, 1992).

Çizelge 2.1. Montmorency vişne çeşidinin bileşimi (100 g meyvede)

| Bileşen                 | Değer  |
|-------------------------|--------|
| Protein (%)             | 1,11   |
| Yağ (%)                 | 0,10   |
| Toplam karbonhidrat (%) | 10,00  |
| Şeker (%)               | 8,20   |
| Früktöz (%)             | 3,10   |
| Glikoz (%)              | 5,10   |
| Diyet lifi (%)          | 1,10   |
| Çözünür lif (%)         | 0,66   |
| Çözünmez lif (%)        | 0,43   |
| Kalsiyum (mg)           | 13,00  |
| Demir (mg)              | 0,50   |
| Fosfor (mg)             | 16,00  |
| Potasyum (mg)           | 132,00 |
| Sodyum (mg)             | 18,00  |
| C vitamini (mg)         | 2,48   |
| A vitamini (IU)         | 538,00 |

### 2.1.2. Vişne Çekirdeği

Çeşitli kaynaklarda vişne çekirdeğinin insan beslenmesinde kullanılabileceğine dair bilgiler bulunmaktadır. Cruess (1958) makarna hamurunda ve yağ üretiminde kayısı, şeftali ve vişne/kiraz çekirdek içlerinden yararlandığını belirtmiştir (Lazos, 1991). Bu konuda Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan Beatrice Foods şirketi tarafından 1974 yılında patent alınmıştır. Patent vişne/kiraz çekirdeğinin öğütülerek insan tüketimine uygun bir un haline getirilmesine yöneliktir. Ayrıca patentte ekmek yapımında buğday

ununun %30'unun yerine vişne/kiraz çekirdeği unu kullanılabilceği ve bu şekilde elde edilen ekmeğin hoşa giden hafif bir badem lezzetine sahip olduğu da belirtilmiştir (Baudhuin, 1974). Lazos (1991) yaptığı incelemeler sonucunda vişne/kiraz çekirdeği içinin besin maddeleri açısından zengin olduğunu, fırıncılık ve şekerleme ürünlerinde protein kaynağı şeklinde kullanılabilceğini belirtmiştir. Aynı araştırmacı vişne/kiraz çekirdeği içinden elde edilen yağın yemeklik yağ olarak ve kozmetik ürünlerinde badem yağının yerine kullanılabilceğini bildirmiştir. Benzer şekilde Kamel ve Kakuda (1992) da vişne/kiraz, kayısı gibi “*Purunus*” cinsinde yer alan meyvelere ait çekirdek içlerinin, insan beslenmesinde kullanılabilir protein ve yağ kaynağı olabileceklerini bildirmiştir.

Weckel ve Lee (1960) tarafından vişne/kiraz çekirdeğinin bileşimini belirlemeye yönelik yapılan çalışmada çekirdeğin kurumaddesinde %7,6 (%N x 6,25) protein ve %10,4 yağ bulunduğu saptanmıştır (Kamel ve Kakuda, 1992).

İran'da yetiştirilen vişne meyvelerine ait çekirdek içlerinin bileşiminin incelendiği bir çalışmada, kurutulmuş vişne çekirdek içlerinin %20,5-33,2 arasında değişen düzeylerde yağ içerdikleri tespit edilmiştir (Farrohi ve Mehran, 1975).

Vişne/kiraz çekirdeği bileşimini belirlemeye yönelik olarak gerçekleştirilen bir başka çalışmada, çekirdeğin kurumaddesinde %6,2 (%N x 5,3) protein, %18,1 karbonhidrat, %14,5 yağ, %60,0 lif ve %1,2 mineral madde içerdği saptanmıştır. Kurutulmuş vişne/kiraz çekirdeği içinin ise %41 yağ bulundurduğu, yağsız kısımdaki protein oranının %31,7 (%N x 5,3) olduğu ve elzem aminoasitlerden metionince fakir olduğu belirlenmiştir (Kamel ve Kakuda, 1992).

Süperkritik akışkan yöntemiyle vişne/kiraz çekirdeğinden yağ ekstraksiyonu üzerinde çalışan Bernardo-Gil ve ark. (2001), kurutulmuş vişne/kiraz çekirdeğinin %89,1 kurumadde, %8,5 yağ, % 10,3 protein, %57,2 lif ve %0,9 kül içerdğini belirlemişlerdir.

Tokat ilinde yetiştirilen vişne meyvelerine ait çekirdek içlerinin bileşimini belirlemeye yönelik olarak gerçekleştirilen çalışmada, çekirdek içlerinin %95,35 kurumadde,

%32,21 (%N x 6,25) protein, %10,16 toplam karbonhidrat ve %34,75 yağ içerdiği saptanmıştır (Gedik, 2011).

## **2.2. Proteinler ve Hidrolizatlarının Fonksiyonel Özellikleri**

### **2.2.1. Proteinler**

Proteinlerin fonksiyonel özellikleri gıda işleme ve ürün formülasyonlarında önem taşımaktadır. Fonksiyonel özelliklerden bazıları su ve yağ tutma, emülsiyon, köpük ve jel oluşturmaktır. Fonksiyonel özelliklerden hangisinin daha önemli olduğu protein konsantrasyonunun veya izolatının kullanılacağı gıda maddesine bağlı olarak değişim gösterir. Örneğin yüksek su ve yağ tutma kapasitesi sosis, ekmek ve keklerde arzu edilirken yüksek emülsifiye etme ve köpük oluşturma özellikleri salata sosları, soslar, çorbalar, şekerlemeler, donmuş tatlı ve kekler için tercih edilen özelliklerdir (Kinsella, 1979; Ahmedna ve ark., 1999).

Proteinlerin farklı koşullardaki çözünürlüğü, emülsiyon oluşturma, köpürme ve jelleşme gibi diğer fonksiyonel özelliklerini önemli düzeyde etkilemesi nedeniyle proteinlerin önemli fonksiyonel niteliklerinden birisidir (Kinsella, 1981). Proteinler izoelektrik noktalarında en düşük çözünürlüğü gösterirler. Çünkü bu noktada protein-protein interaksyonu maksimum seviyede gerçekleşir. İyonların konsantrasyonu ve çeşidi proteinlerin su tutma kapasitesini, şişmesini ve çözünürlüğünü önemli derecede etkilemektedir. Su molekülleri, yük taşıyan gruplara (iyon-dipol interaksyonu), peptid bağlarına, asparajin ve glutaminin amid gruplarına, serin, tironin ve tirozinin hidroksil gruplarına (dipol-dipol interaksyonu) ve polar olmayan aminoasitlere bağlanabilmektedir (Cheftel ve ark., 1985; Saldamlı ve Temiz, 1998).

Proteinlerin su ile etkileşimi, gıdaların lezzet ve yapısını belirlemesi nedeniyle gıda sistemlerinde çok önemlidir. Gıda proteinlerinin su tutma kapasitesini belirleyen proteine özgü faktörler aminoasit bileşimi, üç boyutlu yapı ve yüzey hidrofobisite/polaritesidir. Ayrıca gıda işleme metotları da proteinlerin üç boyutlu yapısı ve hidrofobisitesi üzerinde önemli etkiye sahiptir (Barbut, 1999). Su tutma kapasitesi

çorba, hamur ve fırıncılık ürünleri gibi viskozitesi yüksek gıda maddeleri için kritik bir fonksiyonel özelliktir. Bu ürünlerde proteinlerin çözünmeden suyu tutmaları ve bu sırada viskoziteyi arttırıp kıvam ve yapı kazandırmaları gerekmektedir (Seena ve Sridhar, 2005).

Proteinlerin yağ ile etkileşimi, gıdaların lezzet ve yapısını belirlemesi nedeniyle gıda sistemlerinde çok önemlidir (Barbut, 1999). Gıda emülsiyonları termodinamik açıdan stabil olmayan su-yağ karışımlarıdır. Emülsiyonun oluşması ve stabilitesi mayonez gibi gıda sistemlerinde çok önemlidir. Proteinler yüklü-yüksüz, polar-apolar aminoasitler içerebilmektedir. Bu aminoasitler proteinlere, hidrofilik ve hidrofobik özellikleri bir arada içeren yüzey aktif madde niteliği kazandırmaktadır. Bu sayede proteinler gıda sistemlerinde hem yağ hem de su fazı ile etkileşime girebilmektedir. Proteinlerin stabilize ettiği emülsiyonları pH, iyonik kuvvet, sıcaklık, düşük molekül ağırlığına sahip yüzey aktif maddelerin varlığı, şekerler, yağ fazı ve protein tipi gibi faktörler de etkilemektedir. Bunun yanı sıra emülsiyon özelliğini proteinin çözünabilirliği de oldukça etkileyebilmektedir. Ancak doğrusal bir ilişkiden söz etmek olası değildir (Saldamlı ve Temiz, 1998). Çözünmez ve yüksek düzeyde apolar nitelik gösteren proteinlerin büyük miktarda yağ bağlayabildikleri görülmektedir. Küçük partikül boyutlu, düşük yoğunluklu proteinler yüksek yoğunluklu proteinlerden daha fazla yağ tutarlar. Bitkisel protein konsantrelerinin karbonhidrat bileşenlerinin yağ bağlamada önemli derecede bir payı bulunmamaktadır (Cheftel ve ark., 1985).

Köpük, emülsiyona benzer bir şekilde oluşur. Köpükte su molekülleri apolar faz olan hava küreciklerinin etrafını sarmaktadır. Teorik olarak proteinlerin hem polar hem de apolar grupları bir arada içermesi onları iyi bir köpük oluşturucu konumuna getirmektedir. Bu nitelikleri sayesinde proteinler su-hava ara yüzeyinde yer alarak hava küreciklerinin birleşmesine engel olurlar. Proteinlerin köpürme özellikleri marshmallow, kekler, çırpılmış kremalar gibi gıda maddeleri için önem taşımaktadır (Kinsella, 1979; Saldamlı ve Temiz, 1998). Bir molekülün iyi bir köpürme özelliği gösterebilmesi için (i) köpürme süresince hava/su ara yüzeyine hızlı bir şekilde adsorblanabilmeli, (ii) hızlı yapısal değişikliğe uğrayarak ara yüzeyde yeniden düzenlenebilmeli ve (iii) moleküller arası interaksiyonlar yoluyla kohezif bir

viskoelastik film oluşturabilmelidir (Makri ve ark., 2005). Moleküler arası kohezyon ve elastikiyet stabil köpük oluşumu için önemli iken ikincil ve üçüncül yapıları esnek moleküller köpüklerin etkili bir şekilde oluşumu için gerekli bulunmaktadır (Kinsella, 1981; Damodaran, 1990).

Protein jelleri, protein zincirlerinin kısmi etkileşimi sonucunda suyun hapsedildiği üç boyutlu ağ yapısıdır. Proteinlerin jel oluşturma yetenekleri salam, sosis gibi et ürünlerinde önem taşımaktadır (Kinsella, 1979). Jel, sıvı-katı arasında yer alan bir fazdır. Proteinlerin jel oluşturmaları yalnızca katı-viskoelastik jel oluşumunda değil, aynı zamanda su tutma, kalınlaştırma, partiküllerin bağlanması, köpük stabilizasyonu gibi proseslerde de kullanılmaktadır. Belirli koşullar altında sıcaklık, enzim veya iyon değerli katyonlarla ağ yapısı oluşumu sağlanabilir. Isıl işlem etkisi ile oluşan jelleşmede protein çözeltisi (sol haldeki protein) önce "projel" haline dönüşür. Projel viskoz bir sıvı olup bazı proteinlerde polimerizasyon görülür. Projel oluşumu tersinmez olup ardından ikinci basamak olan ağ yapısının oluşması gelir ve protein jelasyona uğrar. Ağ yapısı oluşmasındaki etkileşimler öncelikle hidrojen bağları, hidrofobik ve elektrostatik etkileşimleri içermektedir (Saldamlı ve Temiz, 1998).

Vişne çekirdeği içinden üretilen protein konsantrasyonunun fonksiyonel niteliklerini incelemek üzere gerçekleştirilen çalışmada, vişne çekirdeği protein konsantrasyonunun su tutma kapasitesi, yağ tutma kapasitesi ve minimum jel oluşturan konsantrasyonu sırasıyla %242, %173 ve %8 olarak bulunmuştur. Maksimum çözünürlük pH 12,0 (%92,96) ve minimum çözünürlük ise pH 5,0'te (%12,41) gözlenmiştir. Emülsiyon aktivite indeksi 38,91 m<sup>2</sup>/g, emülsiyon stabilite indeksi ise 37,49 dakika olarak belirlenmiştir. Protein konsantrasyonunun köpük kapasitesi %35,00 ve köpük stabilitesi ise %71,80 (30 dakika sonra) olarak belirlenmiştir. Protein konsantrasyonunun emülsifiye etme ve köpürme özellikleri sodyum kazeinattan daha düşük bulunmuştur (Gedik, 2011).

### 2.2.2. Hidrolizatlar

Kimyasal veya enzimatik hidrolizasyon yöntemleri kullanılarak proteinlerin fonksiyonel nitelikleri iyileştirilebilmektedir. Daha ılımlı şartlarda çalıştıklarından proteinlerin hidrolizasyonunda öncelikli olarak proteolitik enzimler tercih edilmektedir (Kristinsson ve Rasco, 2000). Bu amaçla tripsin, pepsin, pankreatin, flavourzyme, neutrase, alcalase ve papain gibi farklı proteolitik enzimler kullanılmaktadır (Amarowicz, 2010).

Düşük fiyatı nedeniyle yaygın olarak tercih edilen bir proteolitik enzim olan Alcalase gıdalarda kullanılabilir niteliktedir. Alkali serin proteaz olup *Bacillus licheniformis* tarafından üretilmektedir. Alcalase temel olarak subtilisin Carlsberg enzimini içermektedir. Subtilisin Carlsberg, subtilisin, subtilisin A, subtilopeptidaz A ve Alcalase Novo isimleriyle de bilinmektedir. Subtilisin Carlsberg enzimi 274 aminoasitten oluşan disülfid bağı içermeyen tek bir polipeptittir. Molekül ağırlığı 27 277 Da olup izoelektrik noktası 9,4 pH'dır. Enzim geniş bir spesifikiteye sahip olup peptid bağlarının çoğunu tercihen ise aromatik aminoasit içeren peptid bağı parçalamaktadır. Optimum aktivite gösterdiği pH değeri 8-9 aralığında olup pH 5,0'in altında ve 11,0'in üzerinde hızla aktivitesini yitirmektedir. Alcalase enziminin pepsin ve kimotripsin enzimlerine göre daha yüksek bir hidroliz derecesi sağlaması bu ticari enzimin subtilisin Carlsberg'e ilave olarak diğer bazı proteolitik enzimleri de içerdiği kuşkusuna neden olmuştur. Alcalase enziminin birden fazla proteolitik enzim içerdiği indirgen koşullarda gerçekleştirilen SDS-PAGE analizinde oluşturduğu 4 farklı bant ile doğrulanmıştır. Bu ticari enzimin, aromatik amino asitlerden fenilalanin, triptofan ve tirozin, asidik amino asitlerden glutamik asit, sülfür içeren amino asitlerden metionin, alifatik amino asitlerden lösin ve alanin, hidroksil grubu içeren amino asitlerden serin aminoasidine karşı yüksek spesifikiteye sahip olduğu belirlenmiştir (Doucet, 2003).

Proteinlerin hidrolizi sırasında moleküler ağırlıkta azalma, iyonlaşabilir grup sayısında artma ve hidrofobik grupların açığa çıkması gibi moleküler düzeyde değişiklikler gerçekleşmektedir (Zhao ve ark., 2011). Moleküler düzeyde gerçekleşen bu değişiklikler, hidroliz ürünlerinin çözünürlük, viskozite, emülsiyon ve köpük oluşturma gibi fonksiyonel özelliklerinde de farklılıklara neden olmaktadır (Caessens ve ark.,

1999; Chabanon ve ark., 2007). Söz konusu fonksiyonel niteliklerin değişime uğrama düzeylerinin büyük ölçüde proteinlerin hidroliz seviyelerine bağlı olduğu bildirilmiştir (Spellman ve ark., 2003).

Protein hidrolizatları, gıdaların besin değerini arttırmak, lezzetini iyileştirmek, fonksiyonel niteliklerini geliştirmek (Chabanon ve ark. 2007), biyolojik aktif peptitler üretmek (Spellman ve ark., 2003) ve protein kaynaklı alerjik reaksiyonları önlemek (Neklyudov ve ark., 2000) amacıyla kullanılmaktadır. Farklı düzeylerde hidrolize edilmiş proteinler, kahve beyazlatıcılarında, değişik içeceklerde (Chabanon ve ark. 2007), şampuanlarda, saç spreylerinde ve mikrobiyel besi ortamlarının hazırlanmasında uygulama alanına sahiptirler (Neklyudov ve ark., 2000).

Vişne çekirdeği içi proteinlerinin proteolitik enzimler ile hidrolizasyonunu inceleyen herhangi bir çalışmaya ulaşamadığı için bu kısımda diğer kaynaklardan sağlanan proteinlerin hidrolizi üzerinde yapılan araştırmalardan bazılarının özetleri tarih sırasına göre sunulmuştur.

Kolza tohumu protein izolatu Alcalase enzimi kullanılarak farklı düzeylerde (% 0,0, %3,1, %5,0, %7,1 ve %7,7) hidrolize edilmiş ve elde edilen hidrolizatların fonksiyonel nitelikleri incelenmiştir. Hidrolizatların 1 g örnek/10 mL su şeklinde hazırlanan dispersiyonlarının su tutma kapasiteleri  $1,31\pm 0,11$  (%0,0),  $5,85\pm 0,43$  (%3,1),  $5,14\pm 0,53$  (%5,0),  $5,40\pm 0,10$  (%7,1) ve  $5,51\pm 0,55$  (%7,7) g su/g örnek olarak belirlenmiştir. Farklı hidrolizasyon düzeyine sahip örneklerin (1 g örnek/10 mL mısır yağı) yağ tutma kapasiteleri artan hidroliz düzeyine göre sırasıyla  $0,63\pm 0,05$ ,  $1,55\pm 0,08$ ,  $1,33\pm 0,10$ ,  $1,30\pm 0,13$  ve  $1,37\pm 0,09$  g yağ/g örnek olarak ölçülmüştür. Aynı örneklerden hazırlanan %1,5 (w/v)'lik süspansiyonların köpük kapasiteleri [ $100 \times$  köpük hacmi/(köpük hacmi + sıvı hacmi)] sırasıyla  $18\pm 1$ ,  $69\pm 1$ ,  $58\pm 3$ ,  $59\pm 0$  ve  $59\pm 6$  olarak tespit edilmiştir (Vioque ve ark., 2000).

Drago ve Gonzalez (2001), ısı uygulanmış buğday gluten konsantresini küf kaynaklı (*Aspergillus oryzae*) bir proteaz kullanarak %0, 14, 26 ve 42 düzeylerinde hidrolize etmişlerdir. Hidrolizatların (%2'lik dispersiyonlarının) protein çözünürlükleri genel

olarak hidroliz derecesindeki artışa paralel bir şekilde artış göstermiştir. Hidrolizatların su tutma kapasiteleri sırasıyla yaklaşık 3,10, 1,75, 1,50 ve 1,20 mL/g şeklinde bulunmuştur. Benzer bir şekilde örneklerin köpük kapasiteleri ve köpük stabiliteleri hidroliz düzeyi arttıkça azalma göstermiştir.

Severin ve Xia (2006) tarafından peynir altı suyu protein konsantresinin Alcalase enzimi ile %0, 5, 10, 15 ve 20 düzeylerinde hidrolizasyonu sağlanmış ve elde edilen hidrolizatların fonksiyonel özellikleri incelenmiştir. Örneklerin [15 mL hacimleri (1 mg örnek/mL çözelti) çalkalanarak] köpük kapasiteleri 43,33 (%0), 47,00 (%5), 29,67 (%10), 0,00 (%15) ve 0,00 (%20) mL olarak belirlenirken köpük stabiliteleri (60. dakikadaki) ise %81,00, 7,67, 0,00, 0,00 ve 0,00 şeklinde saptanmıştır. Örneklerin minimum jel oluşturan konsantrasyonları sırasıyla %8, 6, 12, 14 ve >20 şeklinde tespit edilmiştir.

Wasswa ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, ot sazını (*Ctenopharyngodon idella*) derisi Alcalase enzimi ile pH-stat metodu kullanılarak %5,0, %10,4 ve %14,9 düzeylerinde hidrolize edilmiştir. Hidrolizat dispersiyonlarının (0,5 g örnek/20 mL su) su tutma kapasiteleri  $2,0\pm 0,3$  (%5,0),  $3,8\pm 0,2$  (%10,4) ve  $4,9\pm 0,2$  (%14,9) mL su/g örnek şeklinde belirlenmiştir. Protein hidrolizatlarının (0,5 g örnek/10 mL soya yağı) yağ tutma kapasiteleri artan hidroliz derecesine göre sırasıyla  $3,6\pm 0,2$ ,  $3,2\pm 0,1$  ve  $2,4\pm 0,2$  mL yağ/g örnek olarak bulunmuştur. Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler için tespit edilen Hunter renk parametreleri Çizelge 2.2’de sunulmuştur.

Çizelge 2.2. Hidrolizatların Hunter renk değerleri

| Hidrolizasyon Derecesi (%) | L*       | a*        | b*       |
|----------------------------|----------|-----------|----------|
| 5,0                        | 68,9±0,9 | -3,73±1,2 | 18,4±0,7 |
| 10,4                       | 59,6±0,2 | -2,46±0,3 | 22,0±0,5 |
| 14,9                       | 59,3±0,7 | -1,38±0,8 | 26,6±0,9 |

%5, %10,4, %14,9: Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler

Yulaf kepeği konsantresi tripsin enzimi ile 3 farklı düzeyde (%4,1, %6,4 ve %8,3) hidrolize edilmiş ve elde edilen hidrolizatların fonksiyonel özellikleri belirlenmiştir (Guan ve ark., 2007). Protein hidrolizatlarının saptanan çözünürlükleri (100 mg örnek/15 mL su içerisinde), köpük kapasite ve stabilite (20 mg örnek/mL çözelti) ile emülsiyon aktivite ve stabilite indeksleri [24 mL örnek çözeltisi (1 mg örnek/mL çözelti) 8 mL soya yağı] toplu halde Çizelge 2.3’de sunulmuştur.

Çizelge 2.3. Yulaf kepeği konsantresi ve hidrolizatlarının fonksiyonel özellikleri

| Örnekler       | EAİ<br>(m <sup>2</sup> /g) | ESİ<br>(dk) | Su<br>tutma<br>(mL/g) | Yağ<br>tutma<br>(mL/g) | Köpük<br>kapasitesi<br>(%) | Köpük<br>stabilitesi<br>(%, 30. dk) | Protein çözünürlüğü |      |      |      |
|----------------|----------------------------|-------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|-------------------------------------|---------------------|------|------|------|
|                |                            |             |                       |                        |                            |                                     | pH 3                | pH 5 | pH 7 | pH 9 |
| <b>Kontrol</b> | 20,4                       | 46,2        | 2,04                  | 2,96                   | 126,5                      | 63,0                                | 59,0                | 7,3  | 26,0 | 89,3 |
| <b>K + ısı</b> | 18,9                       | 52,6        | 1,94                  | 2,50                   | 132,5                      | 62,6                                | 57,0                | 4,7  | 30,0 | 83,2 |
| <b>%4,1</b>    | 88,1                       | 55,6        | 2,13                  | 1,99                   | 163,5                      | 43,8                                | 63,0                | 51,0 | 76,0 | 93,0 |
| <b>%6,4</b>    | 85,1                       | 55,0        | 2,27                  | 1,78                   | 168,9                      | 48,0                                | 72,0                | 60,0 | 78,0 | 94,0 |
| <b>%8,3</b>    | 89,2                       | 89,6        | 2,25                  | 1,51                   | 173,6                      | 47,9                                | 87,0                | 68,2 | 90,0 | 94,0 |

K+ısı: Isı Uygulanmış kontrol örneği

%4,1, %6,4, %8,3: Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler

EAİ: Emülsiyon aktivite indeksi

ESİ: Emülsiyon stabilite indeksi

Nohut protein izolatlarından immobilize Alcalase enzimi kullanılarak %0,0, 1,0, 2,9, 4,9 ve 10,0 hidroliz derecesine sahip hidrolizatlar elde edilmiştir. Hidrolizatların (%5’lik çözeltileri) çözünürlükleri hidroliz derecesine bağlı olarak artış göstermiştir. Hidrolizatların yağ tutma kapasiteleri sırasıyla 3,08±0,066, 5,42±0,090, 6,18±0,051, 6,28±0,052, 4,43±0,071 g yağ/g örnek şeklinde belirlenmiştir. Hidroliz derecesi %4,9 olan örnek (%3’lük çözeltisi) hem en yüksek köpük kapasitesi (karıştırma sonrası toplam hacim\*100/başlangıç hacmi, yaklaşık %158) ve hem de en yüksek köpük stabilitesi (60. dakikada yaklaşık %60) göstermiştir (Yust ve ark., 2010).

Yer fıstığı protein izolatı Alcalase enzimi kullanılarak %10, %20, %30 ve %40 düzeylerinde hidrolize edilmiş ve hidrolizatların fonksiyonel özellikleri incelenmiştir. Hidrolizatların (%1’lik dispersiyonlarının) pH 1,0-12,0 aralığındaki protein çözünürlükleri hidroliz düzeyi arttıkça artmış ve %40 hidroliz düzeyine sahip örnek bütün pH değerlerinde %100 çözünürlük göstermiştir. Hidrolizatların pH 7,0’deki

emülsiyon aktivite indeksi (EAİ), emülsiyon stabilite indeksi (ESİ) (30 mL %1'lik protein örneği çözeltisi 10 mL bitkisel yağ ile karıştırılarak hazırlanmıştır), köpük kapasitesi ve köpük stabilitesi (%0,5 protein örneği çözeltisi) yaklaşık sonuçları Çizelge 2.4'de sunulmuştur. Hidroliz derecesi arttıkça peptit zincirinin uzunluğunun azaldığı, çözünürlüğün arttığı ve dolayısıyla emülsiyon aktivite indeksinin düştüğü belirlenmiştir (Jamdar ve ark., 2010).

Çizelge 2.4. Yer fıstığı protein hidrolizatlarının fonksiyonel nitelikleri

| Örnekler      | EAİ (m <sup>2</sup> /g) | ESİ (%) | Köpük kapasitesi (%) | Köpük stabilitesi (%) |
|---------------|-------------------------|---------|----------------------|-----------------------|
| <b>İzolat</b> | 180                     | 83      | 70                   | 25                    |
| <b>%10</b>    | 152                     | 76      | 26                   | 2                     |
| <b>%20</b>    | 81                      | 90      | 54                   | 5                     |
| <b>%30</b>    | 110                     | 92      | 61                   | 5                     |
| <b>%40</b>    | 60                      | 97      | 20                   | 5                     |

%10, %20, %30, %40: Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler

EAİ: Emülsiyon aktivite indeksi

ESİ: Emülsiyon stabilite indeksi

Zhao ve ark. (2011) yer fıstığı protein izolatını Alcalase enzimi ile %0,0, 2,1, 3,6 ve 5,4 düzeylerinde hidrolize ederek ürettikleri hidrolizatların fonksiyonel niteliklerini incelemişlerdir. Enzimatik hidrolizin, yer fıstığı protein hidrolizatının çözünürlüğünü 2,0-10,0 pH aralığının tamamında arttırdığı görülmüştür. İzolat, ısı uygulanmış izolat, %2,1, %3,6 ve %5,4 hidroliz derecesine sahip örneklerin (%0,1'lik dispersiyonlarının) emülsiyon aktivite indeksleri (EAİ) sırasıyla 56,2±1,1, 22,2±2,7, 39,2±3,5, 29,3±2,0, 29,2±3,2 m<sup>2</sup>/g olarak saptanmıştır.

### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

Araştırma 2010-2011 yılları arasında Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümünde yürütülmüştür. Araştırmada kullanılan vişne çekirdeği içleri Tokat'ın Niksar ilçesinde bulunan ticari bir işletmeden temin edilerek kullanılıncaya kadar plastik torbalarda 4°C'de muhafaza edilmiştir. Novozymes A/S (Bagsvaerd, Danimarka) tarafından üretilen Alcalase 2.4L<sup>®</sup> enzimi ise Novozymes Dış Ticaret Limited Şirketinden (İstanbul, Türkiye) temin edilmiştir.

#### **3.2. Yöntem**

##### **3.2.1. Vişne Çekirdeği İçinden Yağın Uzaklaştırılması**

Vişne çekirdeği içleri kahve değirmeninde (Bosch MKM 600, Munich, Almanya) parçalanarak un haline getirilmiştir. Öğütülen örnekler, hekzan veya petrol eter ilavesinden (1:5 oranında) sonra oda sıcaklığında (22-24°C) bir saat manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Süre sonunda karışım kaba filtre kağıdından süzülerek hekzan veya petrol eter ayrılmıştır. Ekstraksiyon işlemi önce 3 kez hekzan ve sonra da 2 kez petrol eter ile tekrarlanarak yağın uzaklaşması sağlanmıştır. Hekzan/petrol eter kalıntısının tamamen uzaklaşması için bir gece çeker ocak içerisinde bekletilen örnekler sızdırmaz şekilde kapanabilen cam kavanozlara aktarılmış ve kullanılıncaya kadar (-18°C)'de muhafaza edilmiştir.

##### **3.2.2. Vişne Çekirdeği İçi Protein Konsantresinin (VÇİPK) Hazırlanması**

Saf su içerisinde 1:20 oranında dispers edilen yağsız vişne çekirdeği içinin pH değeri dijital pH metre (inoLab WTW pH 720, Weilheim, Almanya) yardımıyla 2 N NaOH kullanılarak 10,0'a ayarlanmıştır. Daha sonra karışım 180 dakika süreyle manyetik karıştırıcıda (Heidolph MR 3001, Schwabach, Almanya) karıştırılmıştır. Bu süre

içerisinde karışımın pH değeri her 30 dakikada bir kontrol edilerek sabit tutulmuştur. Karışım kaba filtre kağıdından geçirilerek çökelti uzaklaştırılmıştır. Elde edilen sıvı kısmın pH'sı 2 N HCl ile pH 4,5'e ayarlandıktan sonra 15 dakika dinlendirilmiştir. Karışım kaba filtre kağıdından geçirilerek çökelti kısmı toplanmış ve bir miktar saf su ile dispers edilerek pH değeri 7,0'ye ayarlanmıştır. Bu şekilde elde edilen ekstrakt 50°C'lik hava akımlı etüvde (Memmert 100-800, Schwabach, Almanya) 12-18 saat süreyle kurutulup kahve değirmeniyle öğütülmüş ve kullanılıncaya kadar (-18°C)'de depolanmıştır.

### **3.2.3. Protein Konsantresinin Hidrolizasyonu**

Protein konsantresinin saf su ile hazırlanan %4'lük çözeltisi 55°C'ye ısıtılmış, pH değeri 0,5 N NaOH ile 8,0'e ayarlanmış ve 30 dakika boyunca sıcaklık ve pH değerinin sabit kalması sağlanmıştır. Sonra %5, %10 ve %15 hidrolizasyon derecesi elde edilecek şekilde [enzim/substrat oranı sırasıyla 1,2 mL (3,6 AÜ), 2,4 mL (7,2 AÜ) ve 3,6 mL (10,8 AÜ) enzim/100 g konsantre, 1 Anson ünitesi (AÜ): standart koşullar altında üre ile denatüre edilmiş hemoglobinden 1 dakikada 1 mili ekivalan tirozinin Folin kimyasalı ile oluşturduğu absorbansa eşdeğer miktarda absorbans oluşturan trikloroasetik asitte çözünebilir ürün sağlayan enzim miktarıdır] Alcalase 2.4L enzimi (yoğunluğu 1,25 g/mL) ilave edilmiş (4 katı su ile seyreltilerek) ve 40-48 dakika boyunca hidrolizasyon gerçekleştirilmiştir. Enzimatik hidrolizin düzeyi pH-stat metodu kullanılarak tespit edilmiştir (Adler-Nissen, 1986). Hidrolizasyon sırasında karışımın pH değeri her 2 dakikada bir 0,4354 N NaOH ilave edilerek istenilen hidrolizasyon derecesine ulaşıncaya kadar sabit tutulmuş ve hidrolizasyon derecesi (%) Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$DH(\%) = \frac{h \times 100}{h_{top}} = \frac{B \times N_b \times 100}{\alpha \times M_p \times h_{top}} \quad (3.1)$$

- h : Parçalanmış peptit bağı sayısı, mili ekivalan/g  
h<sub>top</sub> : Toplam peptit bağı sayısı, mili ekivalan/g (8 mili ekivalan/g kullanılmıştır)  
B : Harcanan alkali hacmi, mL  
N<sub>b</sub> : Alkalinin normalitesi (0,4354 N NaOH)  
M<sub>p</sub> : Protein miktarı, g (N×6,25)  
α : Amino grubunun ortalama iyonlaşma katsayısı (pH 8,0 ve sıcaklık 55°C olması halinde pK 7,1 ve bu koşullardaki α değeri Eşitlik 3.2 yardımıyla 0,888 şeklinde hesaplanmıştır)

$$\alpha = \frac{10^{(pH-pK)}}{1 + 10^{(pH-pK)}} \quad (3.2)$$

Arzu edilen hidrolizasyon derecesi elde edildikten sonra pH değeri 7,0'ye ayarlanan karışım sıcak su banyosunda (95°C) 10 dakika bekletilerek Alcalase aktivitesi yok edilmiştir. Karışım 50°C'ye soğutulmuş ve hava akımlı etüvde (50°C) 12-18 saat süreyle kurutulmuştur. Kuruyan hidrolizatlar kahve değirmeni (Bosch MKM 600, Munich, Almanya) aracılığı ile parçalanarak toz haline getirilmiş ve daha sonraki analizler için vida kapaklı plastik kaplar içerisinde (-18°C)'de depolanmıştır. Uygulanan ısıl işlemin veya doğal olarak bulunabilecek enzimlerin oluşturduğu etkiyi dikkate almak için aynı işlemlere (Alcalase ilavesi dışında) maruz bırakılan bir kontrol örneği de hazırlanmıştır.

#### 3.2.4. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Kurumadde Analizleri

Vişne çekirdeği içi protein konsantresi ve hidrolizatlarının kurumadde oranları gravimetrik yöntemle belirlenmiştir (Anonim, 1997). Darası alınmış paslanmaz çelik kaplara (G<sub>2</sub>) yaklaşık ikişer gram örnek (G<sub>1</sub>) tartılarak 105±2°C'lik hava akımlı etüvde (Memmert 100-800, Schwabach, Almanya) 4 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda

kaplar desikatöre alınıp 1 saat süre ile soğuması sağlandıktan sonra ağırlıkları ( $G_3$ ) belirlenmiştir. Bu işleme sabit tartım elde edilinceye kadar devam edilerek yüzde (%) kurumadde miktarları Eşitlik 3.3 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Kurumadde} = [(G_3 - G_2) / G_1] \times 100 \quad (3.3)$$

### 3.2.5. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Yağ Analizler

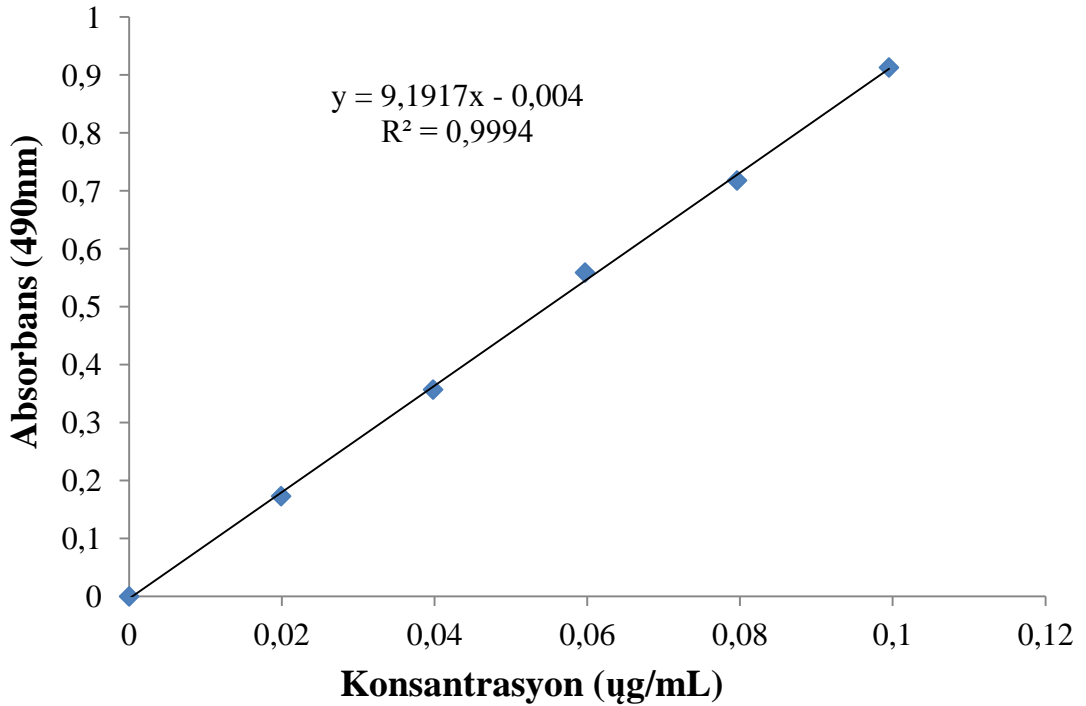
Vişne çekirdeği içi protein konsantresi ve hidrolizatlarının yağ oranlarının belirlenmesi için 1-2 g örnek ( $G_3$ ) darası alınmış kartuşlar içerisine tartılarak ağız kısımları yapıştırılmıştır. Kartuş içeriği ile birlikte  $105 \pm 2^\circ\text{C}$ 'lik etüvde kurutulduktan sonra toplam ağırlık ( $G_2$ ) kaydedilmiştir. Kurutulan örnekler, yağ ekstraksiyon cihazının (Ankom XT10 Extractor, NJ, Amerika Birleşik Devletleri) haznesine konularak petrol eter ile  $95^\circ\text{C}$ 'de 60-90 dakika süre ile ekstraksiyona bırakılmıştır. Ekstraksiyonu tamamlanan örnekler tekrar etüve alınarak  $105 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de kalıntı çözücünden arındırılmıştır. Etüvden alınan örnekler desikatörde soğutulduktan sonra tartılıp ( $G_1$ ) Eşitlik 3.4 kullanılarak yüzde yağ oranları belirlenmiştir.

$$\% \text{ Yağ} = [(G_2 - G_1) / G_3] \times 100 \quad (3.4)$$

### 3.2.6. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Toplam Karbonhidrat Analizleri

Vişne çekirdeği içi protein konsantresi ve hidrolizatlarının toplam karbonhidrat içerikleri, fenol sülfürik asit metoduna göre belirlenmiştir. Örneklerden 75 mg alınıp üzerine 5 mL HCl (2,5 N'lik) ilave edildikten sonra vortex (Velp Scientifica ZX3, Usmate, İtalya) ile 10 saniye karıştırılmıştır. Karıştırılan örnekler  $95^\circ\text{C}$ 'lik su banyosunda 3 saat süreyle (Memmert WB 22, Schutzart, Almanya) hidrolizasyona bırakılmıştır. Su banyosundan alınan örnekler 5 dakika içerisinde  $1^\circ\text{C}$ 'ye soğutulmuştur. Soğutulan örnekler üzerine 750  $\mu\text{L}$  NaOH (% 40 w/w) eklenip vortex ile 5 defa onar saniye süreyle karıştırılmış ve hacimleri saf su ile 250 mL'ye tamamlanmıştır. Bu

şekilde hazırlanan örneklerden bir tüp içerisine 600 µL alınmış ve üzerine 600 µL fenol (% 5 w/w) ilave edildikten sonra vortex ile 30 saniye karıştırılmıştır. Karışım üzerine 3,0 mL konsantre sülfürik asit (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) eklenerek tekrar 30 saniye karıştırılmıştır. Karıştırılan örnekler 80°C'de 30 dakika ısıtılmış ve musluk suyuyla soğutulduktan sonra spektrofotometre (Perkin Elmer UV/Vis spectrometer, Lambda EZ 201, CA, Amerika Birleşik Devletleri) ile 490 nm'deki absorbans değerleri okunmuştur. Kalibrasyon grafiğinin çizilmesinde farklı konsantrasyonlarda glikoz içeren çözeltiler (0-100 µg/mL) kullanılmıştır (Geater ve Fehr, 2000). 100 mg D-glikoz toplam hacim 100 mL olacak şekilde saf suda çözündürülmüş ve bu çözeltiden sırasıyla 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jojelerle aktarılmıştır. Balon jojelerin hacimleri saf su ile 100 mL'ye tamamlandıktan sonra bu çözeltilerden 600'er µL alınarak yukarıda belirtilen işlemlere maruz bırakılmıştır. Daha sonra bu çözeltilerin absorbans değerleri ölçülerek kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Toplam karbonhidrat analizi için hazırlanan kalibrasyon grafiği

### 3.2.7. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Protein Analizleri

Azot içeriklerinin belirlenmesinde Mikro Kjeldahl yöntemi kullanılmıştır (Anonim, 1997). Kjeldahl tüplerine 50-200 mg örnek tartılmış ve üzerine 2 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 150 µL %5'lik CuSO<sub>4</sub> ve 6 mL konsantre H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edildikten sonra yaş yakma işlemine maruz bırakılmıştır. Örnekler Kjeldahl yakma ünitesinde (Gerhardt KB8, Königswinter, Almanya) yaklaşık 2-4 saat süreyle 350°C'de berraklaşınca kadar yakılmıştır. Yakılan örnekler soğuduktan sonra üzerine 20 mL saf su ilave edilip destilasyon ünitesine yerleştirilmiştir. Destilasyon ünitesinde örnek üzerine 15-20 mL %40'luk (w/w) NaOH ilave edilmiş ve destilatın 25 mL %4'lük borik asit çözeltisi içerisinde toplanması sağlanmıştır. Destilasyon sonrası borik asit içerisinde toplanan destilat 0,0200 N HCl ile titre edilerek Eşitlik 3.5 yardımıyla %azot değerleri bulunmuştur. Azot oranlarının 6,25 faktörü ile çarpımlısı ile de örneklerin protein değerleri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Azot} = \frac{(V_1 - V_0) \times 0,014 \times N}{\text{Örnek miktarı (g)}} \times 100 \quad (3.5)$$

V<sub>1</sub> : Titrasyonda örnek için harcanan HCl miktarı (mL)

V<sub>0</sub> : Şahit için harcanan HCl miktarı (mL)

N : Titrasyonda kullanılan HCl'in normalitesi

### 3.2.8. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Kül Analizi

Kül miktarının belirlenmesi Anonim (1997)'de belirtilen şekilde örneklerin kül fırınında (Protherm PLF 115 M, Ankara, Türkiye) yakılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Darası alınmış porselen kroze içerisine (G<sub>2</sub>) 1-3 gram örnek (G<sub>1</sub>) tartılmış ve krozelere çeker ocağın içinde, elektrikli ısıtıcı üzerinde 30 dakika ön yakma işlemi uygulanmıştır. Sonra örnekler kül fırınına alınarak sıcaklık kademeli bir şekilde 550±15°C'ye çıkartılmıştır. Bu sıcaklıkta beyaz renkte kül elde edilinceye kadar (yaklaşık 8 saat) yakılmıştır.

Yakılan örnekler desikatöre alınarak soğutulmuş ve sonra tartılarak ağırlıkları ( $G_3$ ) kaydedilmiştir. Yüzde kül miktarları Eşitlik 3.6'ya göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Kül} = [(G_3 - G_2) / G_1] \times 100 \quad (3.6)$$

### 3.2.9. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Renk Değerlerinin Ölçümü

Örneklerin  $L^*$  (açıklık-koyuluk),  $a^*$  (kırmızı-yeşil) ve  $b^*$  (sarı-mavi) değerleri (Hunter sistemi) kolorimetre (Minolta, CR-300, NJ, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak ölçülmüştür. Renk ölçüm cihazının kalibrasyonu standart beyaz plaka kullanılarak yapılmıştır ( $L^* = 96,97$ ,  $a^* = 0,16$ ,  $b^* = 1,86$ ). Cam petri içerisine 1 cm kalınlığında örnek yayılmış ve üç farklı noktadan yapılan ölçümlerin ortalaması kullanılmıştır (Singh ve ark., 2005). Ayrıca vişne çekirdeği içi protein konsantresine göre toplam renk değişimi ( $\Delta E^*$ ) Eşitlik 3.7 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\Delta E = [(L^* - L_0)^2 + (a^* - a_0)^2 + (b^* - b_0)^2]^{1/2} \quad (3.7)$$

$L_0$  : Vişne çekirdeği içi protein konsantresinin  $L^*$  değeri

$a_0$  : Vişne çekirdeği içi protein konsantresinin  $a^*$  değeri

$b_0$  : Vişne çekirdeği içi protein konsantresinin  $b^*$  değeri

### 3.2.10. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE) ile İncelenmesi

Örneklerdeki proteinlerin moleküler ağırlık profilleri Laemmli (1970) metoduna göre SDS-PAGE kullanılarak belirlenmiştir. Örneklerden yaklaşık 10 mg alınıp 1 mL örnek tamponunda [3,8 mL saf su, 1 mL 0,5 M Tris-HCl pH 6,8 tamponu, 0,80 mL gliserol, 1,6 mL %10'luk (w/v) SDS, 0,8 mL 2- $\beta$ -merkaptetanol, 0,4 mL %0,05 (w/v) bromfenol mavisi] 2 saat süre ile karıştırılarak çözündürülmüştür. Daha sonra örnekler 95°C'lik su banyosunda 5 dakika süreyle ısıtılmıştır. Örnek tamponundaki protein konsantrasyonu 5 mg protein/mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Örnekler santrifüj

edildikten sonra 10 µL (0,05 mg protein) alınıp jele yüklenmiştir. Ayırma ve yığın jelinin akrilamid konsantrasyonu sırasıyla %12 [11,73 mL su, 8,75 mL 1,5 M Tris-HCl pH 8,8 tamponu, 0,35 mL %10'luk (w/v) SDS, 14 mL %30'luk akrilamid/Bis (30 g akrilamid + 0,8 g bis/100 mL), 175 µL %10'luk amonyum persülfat ve 17,5 µL TEMED] ve %4 [6,1 mL su, 2,5 mL 0,5 M Tris-HCl pH 6,8 tamponu, 100 µL %10'luk (w/v) SDS, 1,3 mL %30'luk akrilamid/Bis, 50 µL %10'luk amonyum persülfat ve 10 µL TEMED] olacak şekilde 1 mm kalınlığında dökülmüştür. Elektroforez için pH 8,3, 5X elektrot tamponu (37,5 g tris, 180 g glisin, 12,5 g SDS saf su içerisinde çözüldürülüp hacim 2,5 L'ye tamamlanmıştır) hazırlanarak kullanım esnasında 1:4 oranında saf su ile seyreltilmiştir. Elektroforezde örnekler 25 mA (yığma jeli) ve 35 mA (ayırma jeli) sabit akımda (Consort 1200V-500 mA E815, Turnhout, Belçika) yaklaşık 5 saat süreyle yürütülmüştür. Elektroforez jelindeki proteinler Commassie brilliant blue G250 (%0,1 Commassie brilliant blue G250, %40 metanol, %10 asetik asit, %50 su) ile boyanmış ve %10'luk asetik asit ile boya uzaklaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Moleküler ağırlık standardı olarak (Sigma katalog numarası S8445, MO, Amerika Birleşik Devletleri) miyosin (200 KDa) beta galaktozidaz (116 KDa), fosforilaz b (97 KDa), bovin serum albümini (66 KDa), glutamik dehidrogenaz (55 KDa), ovalbumin (45 KDa), gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (36 KDa), karbonik anhidraz (29 KDa), tripsinojen (24 KDa), tripsin inhibitörü (20 KDa), α-laktalbumin (14,2 KDa) ve aprotinin (6,5 KDa) kullanılmıştır.

### **3.2.11. Vişne Çekirdeği İçi Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi**

#### **3.2.11.1. Su ve Yağ Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi**

Protein örneklerinin su ve yağ tutma kapasiteleri Naczki ve ark. (1985) tarafından bildirilen yöntemle saptanmıştır. Su tutma kapasitesi için 0,5 g örnek üzerine 4 mL saf su ilave edilmiştir. Hazırlanan karışımlar toplam 70 dakika süre ile her 10 dakikada bir 30 saniye baget yardımıyla karıştırılmıştır. Bu işlem sonunda örnekler 25°C ve 2 000 x g'de 15 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örneklerin sıvı fazı

uzaklaştırıldıktan sonra tüplerin ağız kısmı zeminle 45'lik açı oluşturacak şekilde yerleştirilerek 10 dakika boyunca sıvı fazın süzülmesi sağlanmıştır. Sıvı fazdan arındırılmış olan katı kısım tartılarak ağırlık artışı belirlenmiştir. Sonuçlar g su/g örnek veya örnek ağırlığındaki artış yüzde olarak ifade edilmiştir.

Yağ tutma kapasitesinde ise 0,5 g örnek üzerine 3 mL ticari ayçiçeği yağı (Ona) ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım toplam 30 dakika süre ile her 5 dakikada bir 30 saniye boyunca baget kullanılarak karıştırılmıştır. Karıştırılan örnekler 25°C'de 1 600 x g'de 25 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örneklerin sıvı fazı uzaklaştırıldıktan sonra tüpler ters çevrilerek 5 dakika boyunca sıvı fazın süzülmesi sağlanmıştır. Sıvı fazdan arındırılmış olan katı kısım tartılarak ağırlık artışı belirlenmiştir. Referans olarak sodyum kazeinat (Na-kazeinat) kullanılmıştır. Sonuçlar g yağ/g örnek veya örnek ağırlığındaki yüzde artış olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.11.2. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesinin Belirlenmesi

Örneklerin oluşturduğu köpüklerin kapasitesi ve stabilitesi çırpma yöntemiyle belirlenmiştir. 0,5 g örnek üzerine saf su ilave edilerek hacmi 40 mL'ye tamamlanmıştır (%1,25 w/v). Hazırlanan dispersiyon (pH 7,0) homojenizatör (Ultra Turrax, T18 basic, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Almanya) ile 20 000 devir/dakika'da 2 dakika süreyle karıştırılarak köpük oluşumu sağlanmıştır. Örnekler bekletilmeden 100 mL'lik silindire alınıp toplam hacim ve sıvı fazın hacmi kaydedilmiştir. Örneklerin köpük kapasiteleri Eşitlik 3.8 kullanılarak hesaplanmıştır (Moure ve ark., 2001).

$$\text{Köpük Kapasitesi (\%)} = \frac{V_1 - V_2}{V_2} \times 100 \quad (3.8)$$

$V_1$  : Homojenizasyon sonrası toplam hacim

$V_2$  : Homojenizasyon öncesi toplam hacim

Örneklerin köpük stabilitesi ise 0, 10, 30, 60, 90 ve 120 dakika zaman aralıklarında köpük hacmindeki değişim ölçülerek hesap edilmiştir (Moure ve ark., 2001).

$$\text{Köpük Stabilitesi (\%)} = \frac{V_t}{V_k} \times 100 \quad (3.9)$$

$V_t$  : t zamanındaki köpük hacmi

$V_k$  : Homojenizasyon sonrası 0. dakikadaki köpük hacmi

### 3.2.11.3. Emülsiyon Aktivite İndeksi (EAI) ve Emülsiyon Stabilite İndeksinin (ESI) Belirlenmesi

Örneklerin emülsiyon aktivite indeksi ve emülsiyon stabilite indeksi Pearce ve Kinsella (1978) tarafından belirtilen metoda göre ölçülmüştür. %0,1 (w/v)'lik 20 mL protein dispersiyonu (pH 7,0) ve 6,6 mL ayçiçeği yağı (Ona) emülsiyon oluşturmak amacıyla homojenizatör (Ultra Turrax, T18 basic, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Almanya) ile 20 000 devir/dakikada 1 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Emülsiyonun alt kısmından (sıvı faz) alınan 50 µL örnek 5 mL'ye %0,1'lik (w/v) sodyum dedosil sülfat (SDS) ile seyreltilmiştir (1:100 dilüsyon). Karışımın 500 nm'deki absorbansı okunmuş (0. dakikadaki) ve bu absorbans değeri kullanılarak Eşitlik 3.10 yardımıyla EAI değeri hesaplanmıştır.

$$\text{EAI (m}^2\text{/g)} = \frac{2 \times 2,303 \times A_0 \times N}{c \times \varphi \times 10000} \quad (3.10)$$

$A_0$  : 0. dakikadaki absorbans

$N$  : Seyreltme faktörü (100)

$c$  : Protein dispersiyonun protein konsantrasyonu (0,001 g/ml)

$\varphi$  : Yağın hacimsel fraksiyonu (6,6/26,6 = 0,248)

Örneklerin ESI değerleri, emülsiyonun 10 dakika bekletilmesinden sonra alt kısmından (sıvı faz) alınan 50 µL örneğin 5 mL'ye %0,1'lik (w/v) SDS ile seyreltilmesi ve absorbansının 500 nm'de okunması (10. dakikadaki) sonucunda elde edilen verilerden Eşitlik 3.11 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$ESI = \frac{A_0 \times t}{A_0 - A_{10}} \quad (3.11)$$

ESI : Dakika

A<sub>0</sub> : 0. dakikadaki absorbans

A<sub>10</sub> : Homojenizasyon işleminden 10 dakika sonra okunan absorbans

t : Emülsiyonun bekleme süresi (10 dakika)

#### 3.2.11.4. Minimum Jel Oluşturan Konsantrasyonun (MJOK) Belirlenmesi

Örneklerin jelleşme özellikleri Coffmann ve Garcia (1977) tarafından belirtilen yöntemle göre minimum jel oluşturan konsantrasyon şeklinde ölçülmüştür. 1-14 g/100 mL konsantrasyon aralığında tüplere hazırlanan örnek dispersiyonları (pH 7,0) 1 saat süre ile 95°C'lik su banyosunda bekletilmiştir. Örnekler su banyosundan alınıp hızla buzlu su yardımıyla 4°C'ye soğutulmuş ve 2 saat süre ile bu sıcaklıkta bekletilmiştir. Daha sonra örnek tüpleri ters çevrilerek jelleşme düzeyi gözlenmiştir. Jelleşme gösteren tüpler + olarak işaretlenmiştir. Her bir örnek için üç tüp hazırlanmış ve sonuçlar aşağıda belirtildiği şekilde değerlendirilmiştir.

+++ veya ++- jelleşme var

+- - veya - - - jelleşme yok

#### 3.2.11.5. Protein Çözünürlülüğünün Belirlenmesi

Örneklerdeki proteinlerin çözünürlülük profilleri Beuchat ve ark. (1975) tarafından belirtilen yöntemle göre saptanmıştır. %5 (w/v)'lik protein dispersiyonları hazırlanarak pH değerleri 1,0-12,0 aralığında olacak şekilde ayarlanmıştır (0,1-1,0 N NaOH veya 0,1-1,0 N HCl kullanılarak). Her 30 dakikada bir pH değerleri kontrol edilerek oda sıcaklığında 90 dakika süreyle karıştırıldıktan sonra 4 000 x g'de 30 dakika süreyle

santrifüj edilmiştir. Sıvı fazın protein içeriği mikro Kjeldahl yöntemi (Anonim, 1997) ile belirlenerek çözünürlülük Eşitlik 3.12 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Çözünürlülük (\%)} = \frac{\text{SP}}{\text{TP}} \times 100 \quad (3.12)$$

SP : Sıvı fazdaki çözünür protein oranı (g/100 mL)

TP : Başlangıç protein oranı (g/100 mL)

### 3.2.12. İstatistiksel Değerlendirme

Üç tekerrür (n=3) olarak elde edilen analiz sonuçlarının ortalamaları alınarak standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS Statistics V17.0 programında ANOVA analizi kullanılarak yapılmıştır (p<0,05). Ortalamalar arasındaki farklılık ise Duncan testi kullanılarak belirlenmiştir (p<0,05).

## BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Bileşimi

Vişne çekirdeği içlerinden hazırlanan protein konsantresi ve hidrolizatlarının bileşimi Çizelge 4.1'de sunulmuştur. Protein konsantresinin %79,3±0,43 (kurumaddesinde %85,0) protein içerdiği tespit edilmiştir. Kurumadedeki protein oranı %90'ın altında kaldığı için elde edilen ürün protein konsantresi şeklinde adlandırılmıştır.

Çizelgeden de izlenebileceği gibi vişne çekirdeği içi protein konsantresi %93,3±0,28 kurumadde, %1,7±0,01 yağ, %9,7±0,61 toplam karbonhidrat ve %4,4±0,01 oranında kül içermektedir. Vişne çekirdeği içi protein konsantresi üzerinde çalışan Gedik (2011) tarafından kurumadde (%95,97), yağ (%1,93) ve kül (%3,31) için bildirilen değerler çalışmamızda elde edilen değerlere benzerlik göstermektedir. Ancak bu çalışmada tespit edilen toplam karbonhidrat içeriği (%9,7±0,61) Gedik (2011) tarafından bildirilen değerden (%2,94) daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Farklı hidroliz derecelerine sahip hidrolizatların bazı kimyasal nitelikleri. Değerler üç tekerrürün ortalaması olup standart sapması ile birlikte verilmiştir

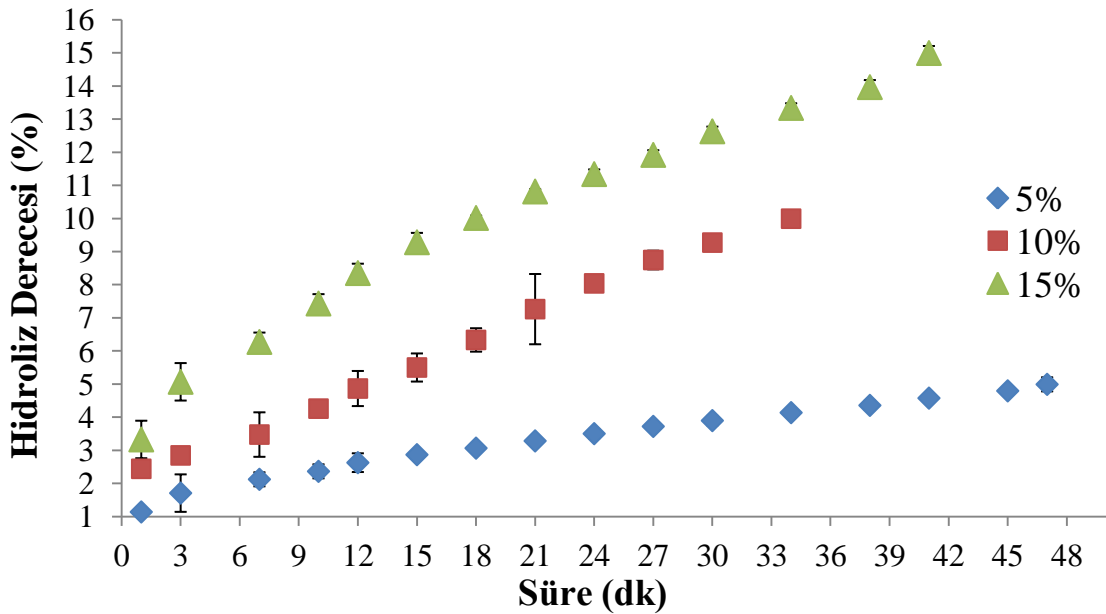
| Bileşen (%)         | PK                     | %5                     | %10                    | %15                    |
|---------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Kurumadde           | 93,3±0,28 <sup>a</sup> | 94,9±0,11 <sup>b</sup> | 93,8±0,09 <sup>c</sup> | 94,0±0,06 <sup>c</sup> |
| Protein             | 79,3±0,43 <sup>a</sup> | 73,9±0,03 <sup>b</sup> | 72,2±0,65 <sup>c</sup> | 70,1±0,09 <sup>d</sup> |
| Yağ                 | 1,7±0,01 <sup>a</sup>  | 2,5±0,01 <sup>b</sup>  | 3,1±0,01 <sup>c</sup>  | 3,3±0,02 <sup>d</sup>  |
| Toplam karbonhidrat | 9,7±0,61 <sup>a</sup>  | 10,1±0,59 <sup>a</sup> | 10,5±0,55 <sup>a</sup> | 10,0±0,28 <sup>a</sup> |
| Kül                 | 4,4±0,01 <sup>a</sup>  | 7,8±0,01 <sup>b</sup>  | 8,9±0,01 <sup>c</sup>  | 10,0±0,01 <sup>d</sup> |

PK: Protein konsantresi

%5, %10, %15: Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler

a, b, c, d: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklıdır (p<0,05)

Vişne protein konsantresinin Alcalase enzimi ile üç farklı seviyede hidrolizine ait grafik Şekil 4.1’de sunulmuştur. Ön denemeler sonucunda aynı sürede (yaklaşık 45 dakika) farklı hidrolizasyon seviyeleri (%5, %10 ve %15) elde etmek için enzim substrat oranı 1,2 mL (3,6 AÜ), 2,4 mL (7,2 AÜ) ve 3,6 mL (10,8 AÜ) Alcalase/100 g protein konsantresi şeklinde belirlenmiştir. Ancak %10 hidrolizasyon düzeyi elde etmek için geçen süre (ortalama 35 dakika) daha kısa olmuştur. Diğer örneklerin hidrolizasyon süresi ise 42 (%15 hidrolizasyon düzeyi) ve 47 (%5 hidrolizasyon düzeyi) dakika olarak gerçekleşmiştir. Enzimlerin katalizlediği reaksiyonlarda ortamdaki substratlar, ürünler veya diğer bileşenler aktivatör ya da inhibitör gibi davranabilirler. Çalışmamızda reaksiyon süresinde gözlenen bu değişkenlik söz konusu bileşenlere bağlanabilir.



Şekil 4.1. Protein konsantresinin Alcalase enzimi ile üç farklı seviyede hidrolizi

Hidrolizasyon sonucu elde edilen ürünlerin bazı kimyasal nitelikleri de yine Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Protein konsantresi ile hidrolize ürünlerin kurumadde oranları arasında istatistiksel bir farklılık ( $p < 0,05$ ) olmakla birlikte bu farklılığın uygulama açısından fazla bir önemi bulunmamaktadır. Örneklerin protein oranları hidrolizasyon derecesinin artışına bağlı olarak istatistiksel açıdan önemli ( $p < 0,05$ ) bir azalma göstermiştir. Hidrolize ürünlerin protein konsantresine oranla daha düşük bir protein

düzeyi göstermesine kül içeriğindeki artışın katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu sonuçlara benzer bir şekilde nohut protein hidrolizatlarının protein oranları da hidrolizasyon derecesi arttıkça azalma göstermiştir (Yust ve ark., 2010).

İncelenen örneklerin yağ oranları hidrolizasyon derecesine paralel bir şekilde değişim göstermiştir. Hidrolizasyon derecesinin artmasıyla örneklerin yağ oranları da önemli ölçüde artış göstermiştir ( $p<0,05$ ). Bu artışın, protein yapısı içerisinde tutulması nedeniyle ekstrakte edilemeyen lipidlerin proteinlerin hidrolizi sonucunda serbest kalmasından ileri geldiği öngörülmektedir. Benzer şekilde pirinç kepeğinin Alcalase enzimi ile muamelesi sonucunda ekstrakte edilen yağ oranının arttığı saptanmıştır (Hanmoungjai ve ark., 2002).

Örneklerin toplam karbonhidrat oranları %9,7-10,5 arasında değişim göstermiş ve hidrolize ürünler ile protein konsantrasyonunun toplam karbonhidrat içerikleri arasında istatistiksel bir farklılık tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ). Hidrolizasyon derecesinin artmasıyla orantılı bir şekilde kül içerikleri de önemli düzeyde artış göstermiştir ( $p<0,05$ ). Hidrolizasyon derecesine bağlı olarak gerçekleşen kül içeriğindeki bu artış, hidrolizasyon sırasında pH değerini sabit tutmak için artan miktarlarda kullanılan sodyum hidroksitten (NaOH) kaynaklanmaktadır. Nohut proteinlerinin Alcalase enzimi ile hidrolize edilmesi sonucunda da benzer bulgular elde edilmiştir (Yust ve ark., 2010).

#### **4.2. Protein Konsantrasyonu ve Hidrolizatlarının Renk Değerleri**

Protein konsantrasyonu ve hidrolizatlarına ait renk değerleri ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) Çizelge 4.2'de verilmiştir. Hidrolizasyon derecesinin %5'den %15'e artmasına paralel olarak örneklerin  $L^*$  değerleri de önemli bir azalış göstermiştir ( $p<0,05$ ). Kırmızı-yeşil rengi ifade eden  $a^*$  değeri bakımından PK, hidrolize ürünlerden daha yüksek bir değere sahip olmuştur ( $p<0,05$ ). Hidrolize ürünlerin  $a^*$  değerlerinin 2,9-3,2 aralığında değişim gösterdiği ve %10 hidrolizasyon düzeyine sahip örneğin hem %5 ve hem de %15 hidrolizasyon düzeyine sahip örneğe benzerlik gösterdiği bulunmuştur ( $p>0,05$ ). İncelenen örneklerin  $b^*$  değerleri 19,3-21,9 arasında değişim gösterirken en yüksek değere 21,9 ile PK örneği sahip olmuştur.

Toplam renk değişimini ifade eden  $\Delta E^*$  değeri hidrolize ürünlerde protein konsantresine göre önemli düzeyde artış göstermiştir ( $p<0,05$ ). Hidrolizasyon derecesi arttıkça toplam renk değişim değeri de önemli ölçüde artmıştır ( $p<0,05$ ). Hidrolizasyon derecesine bağlı olarak  $\Delta E^*$  değerinde gerçekleşen artış, hidrolizasyon sonucu serbest amino grupları sayısındaki artış, enzim inaktivasyonu için  $95^\circ\text{C}$ 'de 10 dakika süreyle uygulanan ısı işlem ve sonrasında  $50^\circ\text{C}$ 'de uygulanan kurutma işlemleri neticesinde gerçekleşmesi olası Maillard tipi kahverengileşme reaksiyonlarına bağlanabilir.

Vişne çekirdeği içi protein konsantresinin renk değerlerini Gedik (2011),  $L^*$ : 55,43,  $a^*$ : 5,67,  $b^*$ : 23,71 şeklinde belirlemiştir. Vişne çekirdeği içi protein hidrolizatlarına ilişkin ise herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Wasswa ve ark. (2007) tarafından ot sazanı derisi Alcalase enzimi ile hidrolize edildiğinde, çalışmamızda elde edilen verilere benzer bir şekilde hidrolizasyon derecesinin artmasına paralel olarak  $L^*$  değerleri azalmış ve  $a^*$  değeri ise artmıştır.

Çizelge 4.2. Protein konsantresi ve hidrolizatlarının renk değerleri. Değerler dört tekerrürün ortalaması olup standart sapması ile birlikte verilmiştir.  $L^*$ : Açıklık (100) koyuluk (0),  $a^*$ : Kırmızı (+) yeşil (-),  $b^*$ : Sarı (+) mavi (-),  $\Delta E^*$ : Toplam renk değişimi

| Örnekler   | $L^*$                   | $a^*$                  | $b^*$                  | $\Delta E^*$           |
|------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| <b>PK</b>  | 63,5±1,40 <sup>ab</sup> | 3,7±0,20 <sup>a</sup>  | 21,9±0,14 <sup>a</sup> | 0,0±0,0 <sup>a</sup>   |
| <b>%5</b>  | 63,9±0,28 <sup>b</sup>  | 2,9±0,05 <sup>b</sup>  | 20,0±0,20 <sup>b</sup> | 2,13±0,14 <sup>b</sup> |
| <b>%10</b> | 62,6±0,33 <sup>a</sup>  | 3,1±0,05 <sup>bc</sup> | 19,3±0,16 <sup>c</sup> | 2,80±0,24 <sup>c</sup> |
| <b>%15</b> | 59,7±0,35 <sup>c</sup>  | 3,2±0,16 <sup>c</sup>  | 20,2±0,28 <sup>b</sup> | 4,13±0,33 <sup>d</sup> |

PK: Protein konsantresi

%5, %10, %15: Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler

a, b, c: Aynı sütunda değişik harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklıdır ( $p<0,05$ )

### 4.3. Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Fonksiyonel Özellikleri

#### 4.3.1. Protein Çözünürlüğü

Protein çözünürlüğü, denatürasyonun ve interaksiyonların bir göstergesi olarak kullanılabilir. Ayrıca protein çözünürlüğü fonksiyonellik için de belirleyici bir faktördür. Örneğin üstün emülsiyon özellikleri için yüksek çözünürlük gerekli olmaktadır. Bir proteinin çözünürlüğü, ortam pH'sı, iyonik güç, ortam sıcaklığı ve protein konsantrasyonu ile ortamdaki organik çözücü gibi faktörlerin varlığına bağlıdır. Proteinin çözünürlüğü ile ilgili bilgiler, doğal kaynaklardan proteinlerin ekstrakte edilip saflaştırılması aşamalarında büyük önem taşımaktadır. Bu özelliğin bilinmesi, proteinlerin gıda endüstrisinde kullanım olanaklarını da yönlendirmektedir (Cheftel ve ark., 1985).

Protein konsantresi ve hidrolize ürünlerinin pH 1,0-12,0 aralığındaki protein çözünürlük profilleri Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2'de verilmiştir. Protein konsantresi ve ısıl işlem uygulanmış protein konsantresinin minimum ve maksimum çözünürlükleri benzer bir şekilde 4,0 ve 12,0 pH değerlerinde gerçekleşmiştir. Protein konsantresinin Alcalase ile hidrolizasyona maruz bırakılması genel olarak protein çözünürlüğünü arttırmıştır. %5 düzeyinde hidrolize edilen örnek bütün pH değerlerinde PK ve PK+ısı örneklerine oranla daha yüksek bir çözünürlük göstermiştir ( $p<0,05$ ). %10 ve 15 düzeyinde hidrolize edilen örnekler bütün pH değerlerinde (12,0 hariç) PK örneğine oranla daha fazla çözünürlüğe sahip olmuşlardır ( $p<0,05$ ). Ayrıca %10 hidroliz derecesinde %15 hidroliz derecesine göre bazı pH değerlerinde daha yüksek çözünürlük gözlenmiştir. Her iki durum da "enzimatik hidroliz sonucunda iyonlaşabilir grupların sayısının artması su ile olan etkileşimi arttırdığından çözünürlüğü de arttırır" ifadesine uygun değildir. Ancak enzim aktivitesini yok etmek için hidrolizata uygulanan ısıl işlem çözünürlük kayıplarına yol açabilmektedir. Bu çözünürlük kaybı, yüksek sıcaklıklarda peptit-peptit veya peptit-protein hidrofobik etkileşiminin teşvik edilmesi neticesinde çözünemeyen fraksiyonların oluşmasından kaynaklanabilir (Severin ve Xia, 2006).

Çizelge 4.3. Protein konsantresi ve hidrolizatların 1,0-12,0 pH aralığındaki protein çözünürlüğü. Değerler üç tekerrürün ortalaması olup standart sapması ile birlikte verilmiştir

| pH | Protein Çözünürlüğü (%) |                          |                         |                         |                           |
|----|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
|    | PK                      | PK+ısı                   | %5                      | %10                     | %15                       |
| 1  | 21,1±0,22 <sup>aA</sup> | 21,0±0,37 <sup>aA</sup>  | 70,2±0,08 <sup>bA</sup> | 70,4±0,20 <sup>bA</sup> | 77,0±0,09 <sup>cF</sup>   |
| 2  | 24,4±0,30 <sup>aB</sup> | 22,5±0,30 <sup>aAB</sup> | 74,5±0,73 <sup>bB</sup> | 67,8±0,59 <sup>cB</sup> | 73,2±1,64 <sup>bCDE</sup> |
| 3  | 22,9±0,22 <sup>aC</sup> | 23,7±0,52 <sup>aB</sup>  | 60,6±0,16 <sup>bC</sup> | 54,6±0,20 <sup>cC</sup> | 70,2±2,95 <sup>dB</sup>   |
| 4  | 18,8±0,45 <sup>aD</sup> | 18,6±0,74 <sup>aC</sup>  | 38,1±0,57 <sup>bD</sup> | 76,2±0,00 <sup>cD</sup> | 74,6±0,67 <sup>dDEF</sup> |
| 5  | 21,2±0,23 <sup>aA</sup> | 30,9±1,11 <sup>bD</sup>  | 43,9±0,16 <sup>cE</sup> | 84,3±1,60 <sup>dE</sup> | 65,6±0,34 <sup>eA</sup>   |
| 6  | 30,5±0,08 <sup>aE</sup> | 35,0±0,67 <sup>bE</sup>  | 38,1±0,08 <sup>cD</sup> | 82,1±0,50 <sup>dF</sup> | 71,6±0,84 <sup>eBC</sup>  |
| 7  | 42,9±0,23 <sup>aF</sup> | 40,3±0,30 <sup>bF</sup>  | 71,1±0,63 <sup>cF</sup> | 85,8±0,29 <sup>dG</sup> | 75,6±0,00 <sup>eEF</sup>  |
| 8  | 51,7±0,30 <sup>aG</sup> | 52,3±0,82 <sup>aG</sup>  | 79,1±0,32 <sup>bG</sup> | 98,1±0,58 <sup>cH</sup> | 72,3±0,77 <sup>dBCD</sup> |
| 9  | 57,9±0,00 <sup>aH</sup> | 59,7±0,91 <sup>bH</sup>  | 76,3±0,40 <sup>cH</sup> | 80,5±0,58 <sup>dI</sup> | 73,9±0,34 <sup>eCDE</sup> |
| 10 | 64,9±0,53 <sup>aI</sup> | 63,1±0,61 <sup>bI</sup>  | 78,2±0,41 <sup>cI</sup> | 89,4±0,49 <sup>dJ</sup> | 84,0±0,34 <sup>eG</sup>   |
| 11 | 73,1±0,08 <sup>aJ</sup> | 72,0±0,38 <sup>bJ</sup>  | 79,3±0,16 <sup>cG</sup> | 87,5±0,20 <sup>dK</sup> | 80,3±0,59 <sup>eH</sup>   |
| 12 | 86,9±0,30 <sup>aK</sup> | 77,9±0,61 <sup>bK</sup>  | 90,8±0,24 <sup>cJ</sup> | 58,6±0,30 <sup>dL</sup> | 81,6±0,42 <sup>eI</sup>   |

PK: Protein konsantresi

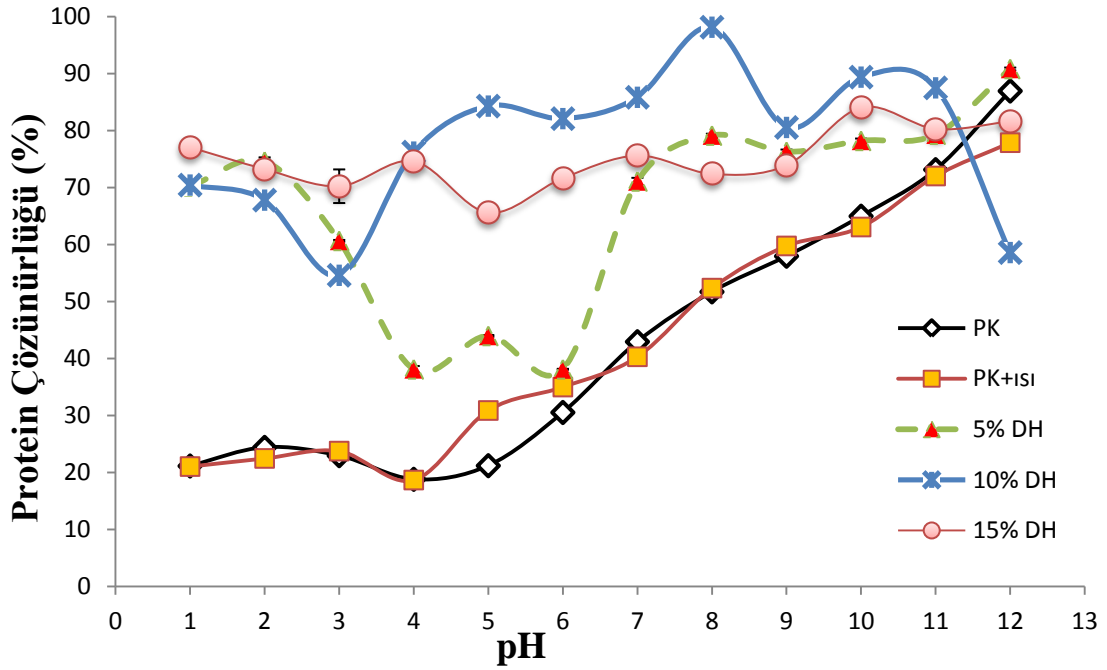
PK+ısı: Enzim ilavesi hariç hidroliz sırasında uygulanan bütün işlemlere maruz bırakılan protein konsantresi

%5, %10, %15: Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler

a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklıdır (p<0,05)

A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklıdır (p<0,05)

Çalışmamızda elde edilen sonuçlara benzer olarak, Drago ve Gonzalez (2001) buğday gluten konsantresi, Guan ve ark. (2007) yulaf kepeği konsantresi, Yust ve ark. (2010) nohut protein izolatu, Jamdar ve ark. (2010) yer fıstığı protein izolatu ve Zhao ve ark. (2011) tarafından yer fıstığı protein izolatu enzimatik olarak hidrolize edildiğinde çözünürlüğün hidroliz derecesine bağlı olarak artış gösterdiğini belirlemişlerdir.



Şekil 4.2. Protein konsantresi ve hidrolizatlarının farklı pH değerlerindeki çözünürlükleri

#### 4.3.2. Su Tutma Kapasitesi

Su tutma yoluyla protein, su alarak şişer ve böylece karakteristik olan yapı, viskozite gibi gıdanın bazı önemli reolojik özellikleri ortaya çıkar. Su tutma kapasitesi çorba, hamur ve fırıncılık ürünleri gibi viskozitesi yüksek gıda maddeleri için kritik öneme sahip fonksiyonel bir özelliktir. Bu ürünlerde proteinlerin çözünmeden suyu tutmaları ve bu sırada viskoziteyi arttırıp kıvam ve yapı kazandırmaları gerekmektedir (Seena ve Sridhar, 2005). Bu nedenle gıdalarda proteinlerin su tutması pratikte büyük önem taşımaktadır. Protein molekülünün su tutma yeteneği boyutun, şeklin, hidrofilik ve hidrofobik etkileşimlerin bir fonksiyonudur. Su tutma yeteneği lipit ve karbonhidrat içeriğinden ve yüzeydeki aminoasit kalıntılarının özelliklerinden etkilenmektedir (Saldamlı ve Temiz, 1998).

Protein konsantresi ve hidrolizatlarının su tutma kapasiteleri 2,03-2,84 g/g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4). Hidrolizasyon derecesi arttıkça örneklerin su tutma kapasiteleri azalmıştır. %5 hidrolizasyon derecesine sahip örnek, %10 ve %15 düzeyinde hidrolize edilen örneklere oranla daha yüksek su tutma kapasitesi

göstermiştir ( $p<0,05$ ). %15 düzeyinde hidrolize edilen örnek en düşük su tutma kapasitesine sahip olup diğer örneklerden önemli ölçüde farklılık göstermektedir ( $p<0,05$ ). Aynı şartlar altında yapılan denemede Na-kazeinatın tamamı suda çözündüğü için herhangi bir sonuç elde edilememiştir.

Çizelge 4.4. Protein konsantresi ve hidrolizatlarının su ve yağ tutma kapasiteleri. Değerler üç tekerrürün ortalaması olup standart sapması ile birlikte verilmiştir

| ÖRNEKLER    | Su tutma kapasitesi<br>(g su/g örnek) | Yağ tutma kapasitesi<br>(g yağ/g örnek) |
|-------------|---------------------------------------|---|
| Na-Kazeinat | Belirlenememiştir                     | 1,93±0,04 <sup>a</sup>                  |
| PK          | 2,84±0,007 <sup>a</sup>               | 1,76±0,03 <sup>b</sup>                  |
| PK+ısı      | 2,77±0,004 <sup>b</sup>               | 1,72±0,05 <sup>bc</sup>                 |
| %5          | 2,50±0,026 <sup>c</sup>               | 1,71±0,04 <sup>bc</sup>                 |
| %10         | 2,18±0,025 <sup>d</sup>               | 1,64±0,02 <sup>c</sup>                  |
| %15         | 2,03±0,021 <sup>e</sup>               | 1,72±0,00 <sup>bc</sup>                 |

PK: Protein konsantresi

PK+ısı: Enzim ilavesi hariç hidroliz sırasında uygulanan bütün işlemlere maruz bırakılan protein konsantresi

%5, %10, %15: Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler

a, b, c, d, e: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklıdır ( $p<0,05$ )

Enzimatik hidroliz sonucunda polar aminoasitlerin su ile teması geçmesi ve iyonlaşabilir grupların açığa çıkması su tutma kapasitesinin artmasına yol açmaktadır (Vioque ve ark., 2000). Ancak hidrolizasyon derecesinin artmasına paralel olarak suda çözünür hale gelen peptitler, analiz sırasında uygulanan santrifüj işlemi ile ortamdan uzaklaşacağından bunların su tutma kapasitesine katkısı olamayacaktır. Ayrıca su ile uzaklaşan bu peptitler örnek kaybı nedeniyle su tutma kapasitesinin azalmasına da yol açabilirler (Guan ve ark., 2007).

Çalışmamızda üretilen protein konsantresinin su tutma kapasitesi 2,84 g/g ile Gedik (2011) tarafından bildirilen 2,42 g/g su tutma kapasitesinden daha yüksek bulunmuştur. Yapılan kaynak taraması sonucunda, hidrolizasyon derecesinin artmasıyla örneklerin su tutma kapasitesinin hem artış ve hem de azalış gösterdiklerine dair verilere

rastlanmıştır. Çalışmamızda elde edilen sonuçların tersine, Vioque ve ark. (2000) ile Wasswa ve ark. (2007) hidrolizasyon derecesinin artmasıyla su tutma kapasitesinin arttığını bildirmişlerdir. Drago ve Gonzalez (2001) ise çalışmamızda elde edilen sonuçlara benzer bir şekilde hidrolizasyon derecesinin artmasıyla örneklerin su tutma kapasitelerinin azaldığını tespit etmişlerdir.

#### **4.3.3. Yağ Tutma Kapasitesi**

Protein ve lipitler arasındaki etkileşim birçok gıdanın duyu kalitesini belirlemektedir. Bu etkileşimler pH, iyonik güç, sıcaklık ve sistemdeki diğer değişkenler tarafından yönlendirilebilmektedir. Çözünürlüğü düşük ve yüksek hidrofobik özellikteki proteinlerin büyük miktarlarda yağ bağlayabildikleri görülmektedir. Küçük partikül boyutlu ve düşük yoğunluklu protein izolatu/konsantresi yüksek yoğunluklu protein izolatu/konsantresinden daha fazla yağ tutabilir. Protein konsantrelerinde bulunabilecek karbonhidratların yağ tutmada önemli bir etkisinin bulunmadığı bildirilmiştir (Cheftel ve ark., 1985).

Protein konsantresi ve hidrolizatlarının yağ tutma kapasiteleri 1,64-1,76 g/g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4). Hidrolizasyon derecesi ile örneklerin yağ tutma kapasiteleri arasında düzenli bir etkileşim bulunmamaktadır. Isıl işlem uygulamasının protein konsantresinin yağ tutma kapasitesine önemli bir etkisi görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Hidrolize örnekler arasında yağ tutma kapasitesi bakımından istatistiksel olarak herhangi bir farklılık belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Standart olarak analize dahil edilen Na-kazeinatın yağ tutma kapasitesi diğer bütün örneklerden daha yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Yüksek yağ tutma kapasitesi, protein molekülünün yüzeyinde fazla miktarda hidrofobik grupların varlığını göstermektedir (Subagio, 2006; Kaur ve Singh, 2007). Elde edilen sonuçlara göre, protein konsantresi ve hidrolizatlarında bulunan protein moleküllerinin yüzeyinde, kazein moleküllerinin yüzeyine oranla daha az miktarda hidrofobik grupların bulunduğu söylenebilir.

Proteinlerin hidrolizi yağ tutma kapasitesini hem olumlu hem de olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Enzimatik hidrolizi sonucunda apolar grupların açığa çıkması yağ

tutma kapasitesinin artmasına yol açmaktadır (Vioque ve ark., 2000). Diğer taraftan yağ tutma kapasitesi üzerinde yağın fiziksel olarak hapsedilmesinin etkili olduğu, hidroliz sonucunda ise yağın hapsedilmesini sağlayacak yüzeylerin azaldığı belirtilmektedir (Guan ve ark., 2007).

Vişne çekirdeği içi protein konsantrisi üzerinde çalışan Gedik (2011) örneklerin yağ tutma kapasitesini 1,73 g/g şeklinde belirlemiş olup bu değer tarafımızdan belirlenen 1,76 g/g verisine benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen verilerin aksine, Vioque ve ark. (2000) kolza tohumu protein izolatını Alcalase enzimi ile hidrolize ettiklerinde, hidrolizatların yağ tutma kapasitelerinin protein izolatına göre arttığını belirlemişlerdir. Hidrolizasyon düzeyi arttıkça yağ tutma kapasitesinin düzenli bir şekilde azaldığı Wasswa ve ark. (2007) tarafından tespit edilmiştir. Yulaf kepeği konsantrisini tripsin enzimi ile hidrolize eden Guan ve ark. (2007) çalışmamıza benzer bir şekilde hidrolizatların protein konsantrisine göre daha düşük yağ tutma kapasitesi gösterdiklerini belirlemişlerdir. Ancak hidrolizasyon derecesi arttıkça yağ tutma kapasitesi düzenli bir şekilde azalış göstermiştir. Nohut protein izolatının Alcalase enzimi ile hidrolize edilmesi sonucu elde edilen ürünlerin yağ tutma kapasitesi belirli bir hidrolizasyon derecesine kadar artış gösterirken en yüksek hidrolizasyon düzeyinde ise azalış göstermiştir (Yust ve ark., 2010).

#### **4.3.4. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesi**

Köpük, ince bir sıvı tabakası (lamella fazı) ile ayrılmış hava hücrelerinden oluşan 2 fazlı bir sistem olarak tanımlanır. Bu sistem stabil olmadığından, stabilizasyonu artırmak amacıyla hava/su ara yüzeyindeki gerilimi azaltacak yüzey aktif moleküllere ihtiyaç duyulur. Çırpma veya hava enjekte etme süresince köpük oluşumu için en önemli ihtiyaç, oluşturulan yeni ara yüzeyin serbest enerjisinin bir yüzey aktif madde yardımı ile hızla azaltılmasıdır (Makri ve ark., 2005). Köpük oluşumu ve özellikleri, proteinin tipi, hazırlama metodu, kompozisyonu, çözünürlüğü ve konsantrasyonundan, ortam pH'sından, tuzların varlığından ve hidrofobik interaksiyonlardan etkilenmektedir. Değişik uygulamalar sonucu ortaya çıkan etkileşimler ve moleküler değişimler köpük davranışını belirlemektedir. Moleküler esneklik, yüzey hidrofobisitesi, net yük, yük

dağılımı ve hidrodinamik özellikler köpük oluşumunu ve stabilitesini etkilemektedir (Massoura ve ark., 1998).

Esnek protein molekülleri iyi bir köpürme yeteneğine sahiptirler. Yüzey denatürasyonu oldukça zor olan globüler proteinler ise düşük köpürme yeteneği göstermektedirler. Yüksek köpük stabilitesi sürekli fazda çözünebilir proteinlerin yüzey aktif özelliğinden kaynaklanmaktadır. Konsantrasyondaki artış viskozite artışına yol açan protein-protein etkileşiminin artmasına neden olur. Bu da ara yüzeyde yapışkan çoklu tabaka protein filminin oluşumunu kolaylaştırır. Bu tabaka, köpüklerin sönmesi ve birleşmesine karşı direnç gösterir (Kaur ve Singh, 2007).

Protein konsantresi ve hidrolizatlarının pH 7,0'deki köpük kapasiteleri %17,5-25,0 aralığında değişim gösterirken (Çizelge 4.5) Na-kazeinatın köpük kapasitesi %46,3 şeklinde belirlenmiştir. Standart olarak kullanılan Na-kazeinat diğer örneklerden daha yüksek köpük kapasitesi göstermiştir ( $p<0,05$ ). Isıl işlem uygulanan protein konsantresi, ısı işlem uygulanmayan protein konsantresine oranla daha yüksek bir köpük kapasitesi göstermiştir ( $p<0,05$ ). Bu durum, ısı işlem sonucu ortaya çıkan kısmi denatürasyonun, proteinlerin hava kabarcıkları yüzeyinde ince bir film oluşturabilme yeteneğini arttırmasına bağlanabilir. Farklı düzeylerde hidrolize edilen örneklerin köpük kapasiteleri hidrolizasyon derecesine bağlı olarak azalma göstermiş olmakla birlikte hidrolizasyon derecesinin köpük kapasitesi üzerinde istatistiksel açıdan önemli bir etkisi tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ).

Vişne çekirdeği içi protein konsantresinin köpük kapasitesini %35,0 olarak belirleyen Gedik (2011), çalışmamızda tespit edilen %21,3 değerinden daha yüksek bir sonuç elde etmiştir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçların aksine hidrolizasyon ile köpük kapasitesinin arttığını tespit eden çalışmalar da bulunmaktadır. Kolza tohumu protein izolatını Alcalase enzimi ile farklı düzeylerde hidrolize eden Vioque ve ark. (2000) hidrolizasyon sonucunda daha yüksek bir köpük kapasitesi sağlamışlardır. Yulaf kepeği konsantresi tripsin enzimi ile hidrolize edildiğinde, hidrolizasyon derecesi ile orantılı bir

şekilde köpük kapasitesi artış göstermiştir (Guan ve ark., 2007). Nohut protein izolatının Alcalase ile hidrolizi yine köpük kapasitesinin artmasına yol açmıştır (Yust ve ark., 2010).

Çizelge 4.5. Na-kazeinat, protein konsantresi ve hidrolizatların köpük kapasiteleri. Değerler üç tekrürün ortalaması olup standart sapması ile birlikte verilmiştir

| ÖRNEKLER           | Köpük Kapasitesi (%)   |
|--------------------|------------------------|
| <b>Na-Kazeinat</b> | 46,3±8,83 <sup>a</sup> |
| <b>PK</b>          | 21,3±1,77 <sup>c</sup> |
| <b>PK+ısı</b>      | 36,3±1,77 <sup>b</sup> |
| <b>%5</b>          | 25,0±0,00 <sup>c</sup> |
| <b>%10</b>         | 23,8±1,77 <sup>c</sup> |
| <b>%15</b>         | 17,5±0,00 <sup>c</sup> |

PK: Protein konsantresi

PK+ısı: Enzim ilavesi hariç hidroliz sırasında uygulanan bütün işlemlere maruz bırakılan protein konsantresi

%5, %10, %15: Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler

a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklıdır (p<0,05)

Drago ve Gonzalez (2001), buğday gluten konsantresini hidrolize ettiklerinde daha düşük bir köpük kapasitesi elde etmişlerdir. Yer fıstığı protein izolatının Alcalase enzimi ile hidrolizi köpük kapasitesinin azalmasına yol açmıştır (Jamdar ve ark., 2010). Bu iki araştırmada elde edilen sonuçlar çalışmamızda bulunan değerlere sınırlı da olsa benzerlik göstermektedir.

Protein konsantresi ve hidrolizatlarından oluşturulan köpük stabiliteğinde zamanla (0-120 dakika) gözlenen değişim Çizelge 4.6 ve Şekil 4.3'de verilmiştir. İlk 30 dakika süresince protein konsantresi, Na-kazeinat kadar dayanıklı köpük oluşturmuştur (p<0,05). Alcalase ile hidrolizasyon sonucunda elde edilen örnekler 120 dakika boyunca daha düşük stabilite göstermişlerdir. %10 ve %15 hidrolizasyon derecesine sahip örneklerin köpük stabilitesi 90. ve 120. dakikalarda sıfır düzeyine inmiştir. Hidrolizatların köpük kapasiteleri gibi köpük stabiliteği de yetersiz kalmıştır.

Çizelge 4.6. Na-kazeinat, protein konsantresi ve hidrolizatların köpük stabiliteeri. Değerler üç tekerrürün ortalaması olup standart sapması ile birlikte verilmiştir

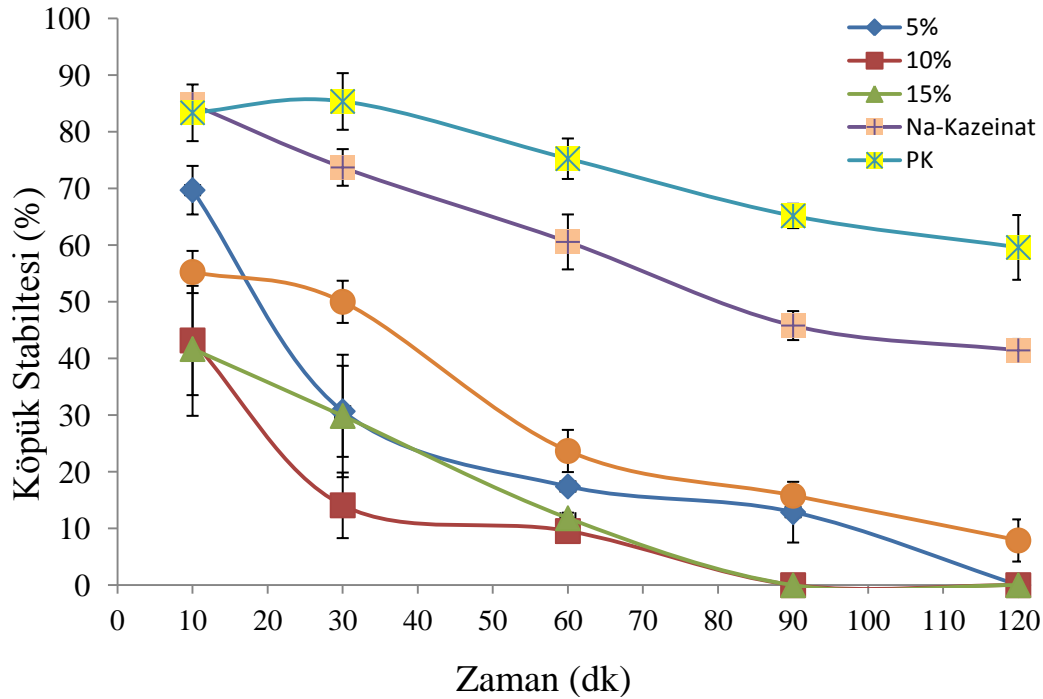
| ÖRNEKLER           | KÖPÜK STABİLİTESİ (%)   |                        |                         |                        |                        |
|--------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
|                    | 10. dk                  | 30. dk                 | 60. dk                  | 90. dk                 | 120. dk                |
| <b>Na-Kazeinat</b> | 84,7±1,21 <sup>a</sup>  | 73,7±3,23 <sup>a</sup> | 60,6±4,85 <sup>a</sup>  | 45,8±2,56 <sup>a</sup> | 41,4±2,02 <sup>a</sup> |
| <b>PK</b>          | 85,4±5,00 <sup>a</sup>  | 85,4±5,00 <sup>a</sup> | 75,3±3,57 <sup>c</sup>  | 65,2±2,14 <sup>b</sup> | 59,6±5,71 <sup>c</sup> |
| <b>PK+ıısı</b>     | 55,3±3,70 <sup>bc</sup> | 50,0±3,72 <sup>b</sup> | 23,7±3,72 <sup>b</sup>  | 15,8±0,00 <sup>c</sup> | 7,9±3,72 <sup>b</sup>  |
| <b>%5</b>          | 69,7±4,28 <sup>ab</sup> | 30,7±8,04 <sup>c</sup> | 17,4±1,07 <sup>bd</sup> | 12,9±5,36 <sup>c</sup> | 0,0±0,00 <sup>d</sup>  |
| <b>%10</b>         | 43,2±9,64 <sup>c</sup>  | 14,1±5,79 <sup>c</sup> | 9,6±0,64 <sup>e</sup>   | 0,0±0,00 <sup>d</sup>  | 0,0±0,00 <sup>d</sup>  |
| <b>%15</b>         | 41,7±11,78 <sup>c</sup> | 29,9±10,8 <sup>c</sup> | 11,8±0,98 <sup>de</sup> | 0,0±0,00 <sup>d</sup>  | 0,0±0,00 <sup>d</sup>  |

PK: Protein konsantresi

PK+ıısı: Enzim ilavesi hariç hidroliz sırasında uygulanan bütün işlemlere maruz bırakılan protein konsantresi

%5, %10, %15: Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler

a, b, c, d, e: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklıdır (p<0,05)



Şekil 4.3. Protein konsantresi ve hidrolizatlarının köpük stabiliteeri

Vişne çekirdeği içi protein konsantrasyonunun 30. dakikadaki köpük stabilitesi %71,80 olarak belirlenmiştir (Gedik, 2011). Bu değer çalışmamızda aynı sürede protein konsantrasyonu için elde edilen %85,4 değerinden daha düşüktür.

Drago ve Gonzalez (2001), Guan ve ark. (2007) ve Jamdar ve ark. (2010) çalışmamızdaki gibi hidrolizasyon sonucunda köpük stabilitesinde azalma tespit etmişlerdir.

#### **4.3.5. Emülsiyon Aktivite İndeksi ve Emülsiyon Stabilite İndeksi**

Yüzey hidrofobisitesi ve protein konsantrasyonu proteinlerin emülsiyon özelliklerini belirleyen temel karakteristiklerdir. Emülsiyon aktivite indeksi (EAI); proteinin emülsiyon oluşumu süresince su/yağ ara yüzeyine hızlı bir şekilde adsorblanabilme yeteneğini yansıtır. Emülsiyon stabilite indeksi (ESI) ise proteinin belirli bir süre stabil bir emülsiyon sağlayabilme yeteneğinin ölçüsüdür (Subagio, 2006). Proteinin kaynağı, konsantrasyonu, çözünbilme yeteneği, pH, sıcaklık, ekipman ve metot gibi çeşitli faktörler ve koşullar proteinlerin emülsifiyer niteliklerini etkilerler. Protein konsantrasyonlarının emülsifiyer özellikleri genel olarak suda çözünürlük profilleri ile benzerlik göstermektedir (Bilgi ve Çelik, 2004).

Protein konsantrasyonu, hidrolizatlar ve Na-kazeinata ait emülsiyon aktivite indeksleri Çizelge 4.7'de sunulmuştur. Çizelgeden de izlenebileceği gibi EAI değerleri protein konsantrasyonu ve hidrolizatları için 21,45-29,62 m<sup>2</sup>/g ve Na-kazeinat için 176,44 m<sup>2</sup>/g olarak tespit edilmiştir. Na-kazeinatın emülsiyon aktivite indeksi protein konsantrasyonu ve hidrolizatlarından daha yüksek bulunmuştur (p<0,05). Hidrolizatlar, PK ve PK+ısı örneklerine oranla daha yüksek EAI değerleri göstermişlerdir. Hidrolizasyon derecesi arttıkça EAI değerleri de artış göstermiştir. Ancak istatistiksel olarak sadece %15 düzeyinde hidrolize edilen örnek diğer iki örnekten önemli düzeyde yüksek EAI değerine sahip olmuştur (p<0,05).

Hidrolizasyon sonucunda EAI değerinin, hidrolizasyon derecesi, protein kaynağı, enzim spesifikliği gibi faktörlere bağlı olarak artış veya azalış gösterebileceği belirtilmiştir. Hidrolizasyon sonucunda EAI değerlerinin artışına, çözünürlük (su-yağ ara yüzeyine

taşınıp film oluşturabilmesi için proteinlerin çözümlü olmaları ön şarttır) ve hidrofobisitede görülen yükselmenin neden olduğu ileri sürülmüştür (Guan ve ark., 2007). Hidrolizasyon sonucunda EAİ değerinin düşmesine ise, peptit zincirleri uzunluğunun azalmasının neden olduğu belirtilmiştir (Jamdar ve ark., 2010).

Çizelge 4.7. Protein konsantresi ve hidrolizatlarının emülsiyon aktivite ve emülsiyon stabilite indeksleri. Değerler üç tekerrürün ortalaması olup standart sapması ile birlikte verilmiştir

| ÖRNEKLER    | Emülsiyon aktivite indeksi (m <sup>2</sup> /g) | Emülsiyon stabilite indeksi (dakika) |
|-------------|--|--------------------------------------|
| Na-Kazeinat | 176,44±2,63 <sup>a</sup>                       | 1 187,50±17,70 <sup>a</sup>          |
| PK          | 22,66±0,26 <sup>b</sup>                        | 116,41±6,49 <sup>c</sup>             |
| PK+ısı      | 21,45±0,39 <sup>b</sup>                        | 55,00±1,01 <sup>b</sup>              |
| %5          | 24,23±0,39 <sup>bc</sup>                       | 63,71±3,23 <sup>b</sup>              |
| %10         | 26,83±0,92 <sup>c</sup>                        | 62,88±1,71 <sup>b</sup>              |
| %15         | 29,62±1,18 <sup>d</sup>                        | 177,22±7,10 <sup>d</sup>             |

PK: Protein konsantresi

PK+ısı: Enzim ilavesi hariç hidroliz sırasında uygulanan bütün işlemlere maruz bırakılan protein konsantresi

%5, %10, %15: Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler

a, b, c, d: Aynı sütunda değişik harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklıdır (p<0,05)

Vişne çekirdeği içi protein konsantresi için Gedik (2011) tarafından bildirilen 38,91 m<sup>2</sup>/g değeri çalışmamızda tespit edilen 22,66 m<sup>2</sup>/g değerinden daha yüksektir.

Hidrolizatlar için çalışmamızda saptanan sonuçlara benzer bir durum Guan ve ark. (2007) tarafından yulaf kepeği protein hidrolizatları ile elde edilmiştir. Yulaf kepeği konsantresi kendisinden tripsin enzimi ile üretilen hidrolizatlardan daha düşük bir EAİ göstermiştir. Hidrolizasyon derecesi ile EAİ arasında düzenli bir etkileşim belirlenmemiştir (Guan ve ark., 2007). Yer fıstığı protein izolatu Alcalase enzimi kullanılarak hidrolize edildiğinde, hidrolize ürünler daha düşük EAİ göstermişlerdir. Hidrolize örneklerin EAİ değerleri hidrolizasyon derecesi ile düzensiz bir değişim göstermiştir (Jamdar ve ark., 2010). Zhao ve ark. (2011) da yer fıstığı protein izolatını

Alcalase enzimi ile hidrolize ettiklerinde benzer bir şekilde hidrolizatların daha düşük EAİ değeri gösterdiğini saptamışlardır.

Emülsiyon stabilite indeksi (10. dakikadaki) sodyum kazeinat için 1 187,50 dakika ve protein konsantresi ile hidrolizatları için 55,00-177,22 dakika olarak belirlenmiştir. Emülsiyon aktivite indeksinde olduğu gibi en yüksek ESİ değerini Na-kazeinat göstermiştir ( $p<0,05$ ). Protein konsantresine uygulanan ısıl işlem ESİ değerini önemli ölçüde azaltmıştır ( $p<0,05$ ). Alcalase enzimi ile uygulanan hidrolizasyon sonucunda ESİ değeri iki örnekte azalırken %15 hidrolizasyon düzeyine sahip örnekte artmıştır. Hidrolizasyon düzeyi %15 olan örnek 177,22 dakika ile Na-kazeinattan sonra en yüksek değeri göstermiştir ( $p<0,05$ ).

Gedik (2011) tarafından vişne çekirdeği içi protein konsantresi için bulunan 37,49 dakikalık ESİ değeri çalışmamızda tespit edilen 116,41 dakikalık değerden daha düşüktür.

Çalışmamızda saptanan verilerin aksine, yulaf kepeği protein konsantresini tripsin enzimi ile 3 farklı düzeyde hidrolize eden Guan ve ark. (2007) hidrolizasyon sonucunda bütün örneklerin ESİ değerlerinde hidrolize edilmemiş konsantreye oranla artış tespit etmişlerdir. Yer fıstığı protein izolatını Alcalase enzimi kullanarak hidrolize eden Jamdar ve ark. (2010), hidrolizasyon derecesinin artışına bağlı olarak ESİ değerlerinin de düzenli bir şekilde attığını belirlemişlerdir.

#### **4.3.6. Minimum Jel Oluşturan Konsantrasyon**

Protein jeli, protein zincirlerinin kısmi etkileşimi sonucunda suyun hapsedildiği üç boyutlu bir ağ yapısıdır (Kinsella, 1979). Jel, sıvı-katı arasında yer alan bir fazdır. Proteinlerin jelleşme yetenekleri, temel olarak sülfidril ve hidrofobik grupların miktarına bağlıdır. Ayrıca proteinlerin karbonhidratlar ve lipitler ile interaksiyonları da jelleşme yeteneklerini etkilemektedir. Jellerin stabilizasyonundan hidrojen bağları ve iyonik etkileşimler sorumludur (Cheftel ve ark., 1985). Proteinlerin jelleşmesine fiziksel, kimyasal veya enzimatik uygulamalar neden olabilir (Adebowale ve Lawal,

2003). Proteinlerin jel oluşturma yetenekleri salam, sosis gibi et ürünlerinde önem taşımaktadır (Kinsella, 1979).

Protein konsantresi ve hidrolizatlarının pH 7,0'deki minimum jel oluşturan konsantrasyonları Çizelge 4.8'de sunulmuştur. PK ve PK + ısı örnekleri benzer bir şekilde %10'luk minimum jel oluşturan konsantrasyon değeri göstermişlerdir. Protein konsantresinin hidrolizasyonu sonucunda minimum jel oluşturan konsantrasyon değeri artış göstermiş ve her üç hidrolizasyon düzeyi için de %11 olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.8. Protein konsantresi ve hidrolizatlarının minimum jel oluşturan konsantrasyonları. Değerler üç tekerrürün ortalamasıdır.

| Konsantrasyon (%) | Protein Konsantresi ve Hidrolizatlarının Jelleşme Durumu |           |         |           |         |
|-------------------|--|-----------|---------|-----------|---------|
|                   | PK   | PK+Isı    | %5      | %10       | %15     |
| 2                 | ---  | ---       | ---     | ---       | ---     |
| 4                 | ---  | ---       | ---     | ---       | ---     |
| 6                 | ---  | ---       | ---     | ---       | ---     |
| 8                 | ---  | ---       | ---     | ---       | ---     |
| 9                 | - + -  | ---       | ---     | ---       | ---     |
| 10                | +++ (*)  | - + + (*) | - + -   | - + -     | - + -   |
| 11                | +++  | +++       | +++ (*) | - + + (*) | +++ (*) |
| 12                | +++  | +++       | +++     | +++       | +++     |

(\*): Minimum jel oluşturan konsantrasyon

PK: Protein konsantresi

PK+ısı: Enzim ilavesi hariç hidroliz sırasında uygulanan bütün işlemlere maruz bırakılan protein konsantresi

%5, %10, %15: Farklı hidroliz düzeylerine sahip örnekler

Hidroliz sonucunda yüklü grupların sayısının artması ve aynı yüke sahip peptitlerin birbirlerini itmesi jelleşme yeteneğini olumsuz yönde etkilemektedir. Proteinlerin jel oluşturabilmesi için itme ve çekme kuvvetlerinin kritik bir dengede bulunmaları gerekmektedir (Severin ve Xia, 2006). Çalışmamızda hidrolizasyon sonucunda minimum jel oluşturan konsantrasyonun artışı peptitler üzerindeki yükler nedeniyle oluşan itme kuvvetlerinin daha etkin olduğunu göstermektedir.

Vişne çekirdeği içi protein konsantresi için minimum jel oluşturan konsantrasyon Gedik (2011) tarafından %8 olarak bulunmuştur. Bu sonuç çalışmamızda elde edilen %10

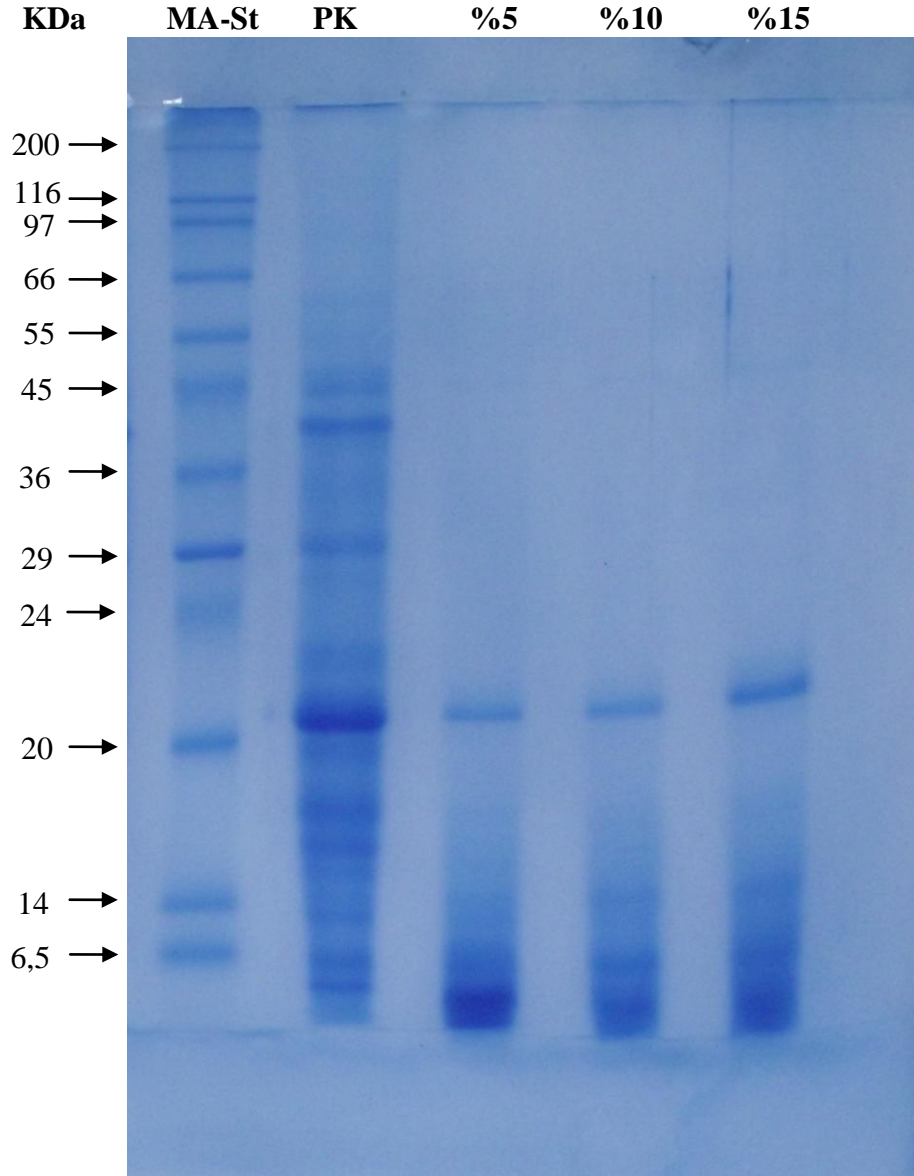
değerinden daha düşüktür. Gedik (2011) tarafından üretilen protein konsantresinin bileşiminin bir miktar farklı olması bu sonuca yol açmış olabilir.

Severin ve Xia (2006) tarafından peynir altı suyu protein konsantresinin Alcalase enzimi ile %0, 5, 10, 15 ve 20 düzeylerinde hidrolizasyonu sağlanmış ve örneklerin minimum jel oluşturan konsantrasyonları sırasıyla %8, 6, 12, 14 ve >20 şeklinde tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen verilerin aksine, minimum jel oluşturan konsantrasyon sınırlı hidrolizasyon sonucunda azalma gösterirken, hidrolizasyon derecesinin artışına bağlı olarak minimum jel oluşturan konsantrasyon da artış göstermiştir.

#### **4.3.7. Jel Elektrofrez (SDS-PAGE)**

Vişne çekirdeği içi proteinlerinden hangilerinin hidrolizasyona uğradığını ve hidrolizasyon ürünlerinin molekül ağırlıklarının hangi sınırlar içerisinde değişim gösterdiğini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen SDS-PAGE analizi sonucunda elde edilen elektroforetogram Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Jel üzerindeki her bir örnek haznesine eşit miktarda protein olacak şekilde yükleme yapılmaya çalışılmıştır.

Protein konsantresine ait bantlar incelendiğinde, molekül ağırlıkları 14-66 KDa arasında değişen proteinler içerdiği saptanmıştır. Çalışmamızda elde edilen bu sonuca Gedik (2011) tarafından da ulaşılmıştır. Protein konsantresinin farklı düzeylerde hidrolizasyona maruz bırakılması hemen hemen aynı görünümde protein bantlarına yol açmıştır. Protein konsantresinde bulunan 20 KDa'un üzerindeki bantların tamamına yakını hidrolizasyona uğramıştır. Yaklaşık 20 KDa molekül ağırlığına karşılık gelen yerdeki protein bandı ise bütün hidroliz seviyelerinde varlığını muhafaza ettiğinden belirli ölçüde proteolize direnç gösterdiği anlaşılmaktadır. Her üç hidroliz seviyesinde 6,5 KDa molekül ağırlığına karşılık gelen alanda yoğunluk artışı gerçekleşmiştir. Elektrofrez analizi, vişne çekirdeği içi proteinlerinin Alcalase enzimi ile ileri düzeylerde hidrolize edilebileceğini göstermiştir.



Şekil 4.4. Protein konsantresi ve hidrolizatlarının SDS-PAGE elektroforetogramı.

Miyosin (200 KDa), beta-galaktozidaz (116 KDa), fosforilaz b (97 KDa), bovin serum albümini (66 KDa), glutamik dehidrogenaz (55 KDa), ovalbumin (45 KDa), gliseraldehit-3 fosfat dehidrogenaz (36 KDa), karbonik anhidraz (29 KDa), tripsinojen (24 KDa), tripsin inhibitörü (20 KDa),  $\alpha$ -laktalbumin (14,2 KDa) ve aprotinin (6,5 KDa).

MA-St: Moleküler ağırlık standardı

PK: Protein Konsantresi

%5: %5 hidrolizasyon derecesine sahip örnek

%10: %10 hidrolizasyon derecesine sahip örnek

%15: %15 hidrolizasyon derecesine sahip örnek

## 5. SONUÇ

- Vişne çekirdeği içlerinden protein konsantresi hazırlanmış ve bu konsantre Alcalase enzimi ile %5, 10 ve 15 düzeylerinde hidrolize edilmiştir.
- Vişne çekirdeği içlerinden hazırlanan protein konsantresinin %93,3±0,28 kurumadde, %1,7±0,01 yağ, %79,3±0,43 protein, %9,7±0,61 toplam karbonhidrat ve %4,4±0,01 oranında kül içerdiği tespit edilmiştir. Protein konsantresi ile hidrolize ürünlerin kurumadde oranları arasında istatistiksel bir farklılık olmakla birlikte bu farklılığın uygulama açısından fazla bir önemi bulunmadığı düşünülmektedir. Hidrolize ürünler, protein konsantresine oranla daha düşük bir protein düzeyi göstermiştir. Hidrolizatların yağ oranları hidrolizasyon derecesine paralel bir şekilde artış göstermiştir. Hidrolize ürünler ile protein konsantresinin toplam karbonhidrat içerikleri arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir. Hidrolizasyon derecesinin artmasıyla orantılı bir şekilde hidrolizatların kül içerikleri de önemli düzeyde artış göstermiştir.
- Toplam renk değişim değeri ( $\Delta E$ ) hidrolize ürünlerde protein konsantresine göre önemli düzeyde artış göstermiştir. Bu durumun, hidrolizasyon sonucu serbest amino grupları sayısındaki artış, enzim inaktivasyonu için 95°C'de 10 dakika süreyle uygulanan ısı işlem ve sonrasında 50°C'de uygulanan kurutma işlemleri neticesinde gerçekleşmesi olası Maillard tipi kahverengileşme reaksiyonlarından kaynaklandığı ileri sürülebilir.
- Alcalase enzimi ile protein konsantresinin hidrolizasyonu genel olarak protein çözünürlüğünü arttırmıştır.
- Protein konsantresi ve hidrolizatlarının su tutma kapasiteleri 2,03-2,84 g su/g örnek arasında değişim göstermiştir. Hidrolizasyon derecesi arttıkça örneklerin su tutma kapasiteleri azalmıştır.
- Protein konsantresi ve hidrolizatlarının yağ tutma kapasiteleri 1,64-1,76 g yağ/g örnek arasında değişim gösterdiği ve hidrolizasyon derecesi ile örneklerin yağ tutma kapasiteleri arasında düzenli bir etkileşimin bulunmadığı tespit edilmiştir.

- Protein konsantresi ve hidrolizatlarının pH 7,0'deki köpük kapasiteleri %17,5-25,0 aralığında değişim göstermiştir. Hidrolizasyon derecesinin köpük kapasitesi üzerinde önemli bir etkisi tespit edilememiştir.
- Alcalase enzimi ile hidrolizasyon sonucunda elde edilen ürünler 120 dakika boyunca protein konsantresine oranla daha düşük köpük stabilite göstermişlerdir.
- Na-kazeinatın emülsiyon aktivite indeksi protein konsantresi ve hidrolizatlarından daha yüksek bulunmuştur. Hidrolizatlar, protein konsantresine ve ısıl işlem uygulanmış protein konsantresine oranla daha yüksek emülsiyon aktivite indeksi göstermişlerdir.
- Emülsiyon aktivite indeksine benzer şekilde en yüksek emülsiyon stabilite indeksini Na-kazeinat göstermiştir. Alcalase enzimi ile hidrolizasyon, emülsiyon stabilite indeksini iki örnekte azaltırken %15 hidrolizasyon düzeyine sahip örnekte arttırmıştır.
- Protein konsantresinin minimum jel oluşturan konsantrasyon değeri (%10), hidrolizasyon sonucunda %11'e yükselmiştir.
- Protein konsantresinin farklı düzeylerde hidrolizasyona maruz bırakılması yaklaşık aynı görünümde protein bantlarına yol açmıştır. Protein konsantresinde bulunan 20 KDa'un üzerindeki bantların tamamına yakını hidrolizasyona uğratılmıştır.
- Sonuçların genel bir değerlendirmesi yapıldığında, vişne çekirdeği içinden hazırlanan protein konsantresinin Alcalase enzimi ile hidrolize edilebildiği ve hidrolizasyon sonucunda elde edilen ürünlerin çözünürlüklerinin iyileştiği belirlenmiştir. Ancak hidrolizatların emülsiyon, köpük ve jel oluşturma, su ve yağ tutma özelliklerinde önemli bir gelişmenin sağlanamadığı anlaşılmaktadır. Farklı kurutma teknikleri, farklı proteolitik enzimler, hidrolizasyon sonrası çözünürlüğü düşük ürünlerin santrifüj, filtrasyon gibi uygun bir teknikle uzaklaştırılması gibi işlemlerin inceleneceği çalışmalar ile daha üstün fonksiyonel niteliklere sahip hidrolizatlar elde edilebilir.

## 6. KAYNAKLAR

- Adebowale, K.O. ve Lawal, O.S., 2003. Foaming, Gelation And Electrophoretic Characteristics Of Mucuna Bean (*Mucuna Pruriens*) Protein Concentrates. Food Chemistry, 83, 237-246.
- Adler-Nissen, J., 1986. Enzymic Hydrolysis of Food Proteins. Elsevier Applied Science Publishers, New York, USA, pp. 132–142.
- Ahmedna, M., Prinyawiwatkul, W., Rao, R. M., 1999. Solubilized wheat protein isolate: Functional properties and potential food applications. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(4), 1340–1345.
- Amarowicz, R., 2010. Modification of emulsifying properties of food proteins by enzymatic hydrolysis. Eur. J. Lipid Science Technolgy, 112, 695–696.
- Anonim, 1997. Official Methods of Analysis of AOAC International (16th. Pub). Arlington, VA. USA.
- Anonim, 2011a. [http://www.tarim.gov.tr/uretim/Bitkisel\\_Uretim,Kiraz\\_Ve\\_Visne\\_Yetistiriciligi.html?LanguageID=1](http://www.tarim.gov.tr/uretim/Bitkisel_Uretim,Kiraz_Ve_Visne_Yetistiriciligi.html?LanguageID=1) (04.05.2011).
- Anonim, 2011b. [http://www.ispartatarim.gov.tr/yetistiricilik\\_detay.asp?id=391](http://www.ispartatarim.gov.tr/yetistiricilik_detay.asp?id=391) (02.05.2011).
- Anonim, 2011c. FAO. <http://faostat.fao.org>. (16.06.2011).
- Anonim, 2011d. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Vi%C5%9Fne> (04.05.2011).
- Bak, I., Lekli, I., Juhasz, B., Nagy, N., Varga, E., Varadi, J., Gesztelyi, R., Szabo, G., Szendrei, L., Bacskay, I., Vecsernyes, M., Antal, M., Fesus, L., Boucher, F., de Leiris, J. ve Tosaki, A., 2006. Cardio Protective mechanisms of Prunus cerasus (sour cherry) seed extract against ischemia-reperfusion-induced damage in isolated rat hearts. Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 291, 1329–1336.
- Barbut, S., 1999. Determining water and fat holding. In G. M. Hall (Ed.), Methods of testing protein functionality. Blackie Academic and Professional, 186–225.
- Baudhuin, G. J., 1974. Cherry pit flour consisting of finely ground cherry hulls and cherry kernels. United State Patent No: 3821431.
- Becker, E. W., 2007. Microalgae as a source of protein. Biotechnology Advances, 25, 207–210.
- Bernardo-Gil, G., Oneto, C., Antunes, P., Rodrigues, M. F. ve Empis, J. M., 2001. Extraction of lipids from cherry seed oil using supercritical carbon dioxide. Eur Food Res Technol, 212, 170–174.
- Beuchat, L. R., Cherry, J. P. ve Quinn, M. R., 1975. Physicochemical properties of peanut flour as affected by proteolysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 23, 616-620.
- Bilgi, B. ve Çelik, S., 2004. Solubility and Emulsifying Properties of Barley Protein Concentrate. Eur. Food Res. Technol., 218, 437-441.
- Caessens, P. W. J. R., Daamen, W. F., Gruppen, H., Visser, S., ve Voragen, A. G. J., 1999. Beta- Lactoglobulin Hydrolysis. 2. Peptide Identification, SH/SS Exchange, and Functional Properties of Hydrolysate Fractions Formed by the Action of Plasmin. J. Agric. Food Chem, 47, 2980–2990.
- Chabanon, G., Chevalot, I., Framboisier, X., Chenu, S. ve Marc, I., 2007. Hydrolysis of rapeseed protein isolates: Kinetics, characterization and functional properties of hydrolysates. Process Biochemistry, 42, 1419–1428.

- Cheftel, J.C., Cuq, J.L. ve Lorient, D., 1985. Amino acids, peptides and proteins. Ch. 5 in Food Chemistry O.R. Fennema (Ed.). Marcel Dekker, Inc., New York, 246-369.
- Clemente, A., 2000. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. Trends Food Sci. Technol., 11, 254–62.
- Coffman, C. W. ve Garcia, V.V., 1977. Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. Journal of Food Technology, 12, 473-484.
- Damodaron, S., 1990. Interfaces, protein films and foams. Advances in Food and Nutrition Research, 34, 1-79.
- Doucet, D., Otter, D. E., Gauthier, S.F. ve Foegeding, E.A., 2003. Enzyme-Induced Gelation of Extensively Hydrolyzed Whey Proteins by Alcalase: Peptide Identification and Determination of Enzyme Specificity. J. Agriculture Food Chemistry, 51, 6300-6308.
- Drago, S.R. ve Gonzalez, R.J., 2001. Foaming properties of enzymatically hydrolysed wheat gluten. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 1, 269-273.
- Duman, G., Okutucu, C., Ucar, S., Stahl, R. ve Yanik, J., 2011. The slow and fast pyrolysis of cherry seed. Bioresource Technology, 102, 1869–1878.
- Farrohi, F. ve Mehran, M., 1975. Oil characteristics of sweet and sour cherry kernels. J. Am. Oil Chemists' Soc., 52, 520-521.
- Gbogouri, G. A., Linder, M., Fanni, J. ve Parmentier, M., 2004. Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon by product hydrolysates. Journal of Food Science, 69, 615–622.
- Geater, C. W. ve Fehr, W.R., 2000. Association of Total Sugar Content with Other Seed Traits of Diverse Soybean Cultivars. Crop Sci., 40, 1555-1558.
- Gedik, M., 2011. Vişne Çekirdeği İçinden Üretilen Protein Konsantresinin Bazı Kimyasal ve Fonksiyonel Özellikleri. Yüksek lisans tezi, Fen bilimleri enstitüsü/Gıda mühendisliği anabilim dalı, Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Tokat.
- Guan, X., Yao, H., Chen, Z., Shan, L. ve Zhang, M., 2007. Some functional properties of oat bran protein concentrate modified by trypsin. Food Chemistry, 101, 163–170.
- Hanmoungjai, P., Pyle, D.L. ve Niranjana, K., 2002. Enzyme-Assisted Water Extraction of Oil and Protein From Rice Bran. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 77, 771-776.
- Iezzoni, A., 2008. Cherries. In The Encyclopedia of Fruits and Nuts, eds. Jules Janick & R E. Paull, Wallingford, Oxfordshire: CABI Publishing, UK., 685-693.
- Jamdar, S.N., Rajalakshmi, V., Pednekar, M.D., Juan, F., Yardi, V. ve Sharma, A., 2010. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. Food Chemistry, 121, 178–184.
- Jayaprakasam, B., Vareed, S.K., Olson, L.K. ve Nair, M.G., 2005. Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanins present in fruits. J. Agric. Food Chem., 53, 28–31.
- Kamel, B.S. ve Kakuda, Y., 1992. Characterization of the seed oil and meal from apricot, cherry, nectarine, peach and plum. JAOCS, 69, 492-494.

- Kang, S. Y., Seeram, N. P., Nair, M. G. ve Bourquin, L. D., 2003. Tart cherry anthocyanins inhibit tumor development in Apcmin mice and reduce proliferation of human colon cancer cells. *Cancer Letters*, 194, 13–19.
- Kaur, M. ve Singh, N., 2007. Characterization of Protein Isolates from Different Indian Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Cultivars. *Food Chemistry*, Article in press.
- Kinsella, J.E., 1979. Functional Properties of Proteins in Foods. *Food Science and Nutrition*, 9, 219-280.
- Kinsella, J.E., 1981. Functional properties of proteins: possible relationships between structure and function in foams. *Food Chemistry*, 7, 273-288.
- Kirakosyan, A., Seymour, E. M., Urcuyo Llanes, D. E., Kaufman, P. B. ve Bolling, S. F., 2009. Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products. *Food Chemistry*, 115(1), 20–25.
- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., Hayes, K.D. ve Shahidi, F., 2008. Comparative study on antioxidative activity of yellow stripe trevally protein hydrolysate produced from alcalase and flavourzyme. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1019–1026.
- Kristinsson, H. G. ve Rasco, B. A., 2000. Fish protein hydrolysates: Production, biochemical and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40, 43–81.
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the heat of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- Lazos, E.S. 1991. Composition and oil characteristics of apricot, peach and cherry kernel. *Grasas Y Aceites*, 42, 127–131.
- Makri, E., Papalamprou, E. ve Doxastakis, G., 2005. Study of functional properties of seed storage proteins from Indigenous european legume Crops (Lupine, Pea, Broad Bean) in admixture with polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 19, 583-594.
- Massoura, E., Vereijken, J.M., Kolster, P. ve Derksen, J.T.P., 1998. Proteins From *Crambe abyssinica* Oilseed. I. Isolation Procedure. *Journal of The American Oil Chemists. Society*, 75, 329-335.
- Moure, A., Sineiro, J. ve Dominguez, H., 2001. Extraction and functionality of membrane concentrated protein from defatted *Rosa rubiginosa* seeds. *Food Chemistry*, 74, 327-339.
- Naczk, M., Diosady, L.L. ve Rubin, L.J., 1985. Functional properties of canola meals produced by a two-phase solvent extraction system. *Journal of Food Science*, 50, 1685-1692.
- Neklyudov, A.D., Ivankin, A.N. ve Berdutina, A.V., 2000. Production and purification of protein hydrolysates (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 36 (4) 317-324.
- Ogunwolu, S.O., Henshaw, F.O., Mock, H.P., Santros, A. ve Awonorin, S.O., 2009. Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. *Food Chemistry*, 115, 852–858.
- Panyam, D. ve Kilara, A., 1996. Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. *Trends. Food Sci Technol*, 7, 120–125.
- Pearce, K.N. ve Kinsella, J.E., 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26, 716-723.

- Saldamlı, İ. ve Temiz, A., 1998. Aminoasitler, Peptitler ve Proteinler. Gıda kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 195-257.
- Seena, S. ve Sridhar, K. R., 2005. Physicochemical, functional and cooking properties of Canavalia. *Journal of Food Chemistry*, 32, 406–412.
- Severin, S. ve Xia, W.S., 2006. Enzymatic Hydrolysis of Whey Proteins by two Different Proteases and Their Effect on the Functional Properties of Resulting Protein Hydrolysates. *Journal of Food Biochemistry*, 30, 77–97.
- Singh, N., Kaur, M. ve Sandhu, K.S., 2005. Physicochemical and functional properties of freeze-dried and oven dried corn gluten meals. *Drying Technology*, 23, 975-988.
- Singh, P., Kumar, R., Sabapathy, S.N. ve Bawa, A.S., 2008. Functional and edible uses of soy protein products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7, 14-28.
- Spellman, D., McEvoy E., O’Cuinn G. ve Fitz Gerald R.J., 2003. Proteinase and exopeptidase hydrolysis of whey protein: Comparison of the TNBS, OPA and pH stat methods for quantification of degree of hydrolysis. *International Dairy Journal*, 13, 447–453.
- Subagio, A., 2006. Characterization of Hyacinth Bean (*lablab purpureus* L. Sweet) Seeds from Indonesia and Their Protein Isolate. *Food Chemistry*, 95, 65-70.
- Vioque, J., Sánchez-Vioque, R., Clemente, A., Pedroche, J. ve Millán, F., 2000. Partially hydrolyzed rapeseed protein isolates with improved functional properties. *JAOCS*, 77, 447–450.
- Wang, H., Nair, M.G., Strasburg, G.M., Chang, Y.C., Booren, A.M., Gray, J.I. ve DeWitt, D.L., 1999. Antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *J. Nat. Prod.* 62, 294–296.
- Wasswa, J., Tang, J., Gu, X.H. ve Yuan, X.G., 2007. Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry*, 104, 1698–1704.
- Yust, M., Pedroche, J., Millán-Linares, M.C., Hidalgo, J.M.A. ve Millán, F., 2010. Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilised Alcalase. *Food Chemistry*, 122, 1212–1217.
- Zhao, G., Liu, Y., Zhao, M., Ren, J. ve Yang, B., 2011. Enzymatic hydrolysis and their effects on conformational and functional properties of peanut protein isolate. *Food Chemistry*, 127, 1438–1443.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Ali CİNGÖZ  
 Doğum Tarihi ve Yer : 10.03.1986 - KONYA  
 Medeni Hali : Evli  
 Yabancı Dili : İngilizce  
 Telefon : 0356 252 1616 / Dahili:2901  
 E- mail : ali.cingoz@gop.edu.tr

### Eğitim

| Derece | Eğitim Birimi                         | Mezuniyet Tarihi |
|--------|---------------------------------------|------------------|
| Lise   | Karatay S.D.M.P. Anadolu Lisesi       | 2005             |
| Lisans | Selçuk Üniversitesi, Gıda Müh., KONYA | 2009             |

### İş Deneyimi

| Yıl                     | Yer                                   | Görev                                  |
|-------------------------|---------------------------------------|--|
| 2009-2010               | Molino Mak. San. Tic. A.Ş. – KONYA    | Sorumlu Yönetici<br>AR-GE Koordinatörü |
| Şubat/2010-Haziran/2010 | Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi | Araştırma Görevlisi                    |
| Temmuz 2010-.....       | Gaziosmanpaşa Üniversitesi TOKAT      | Araştırma Görevlisi                    |

### Yayımlar

1. K.S. Dayısoylu, **A. Cingöz**, N. Karaman, A. Yener. Dondurma Teknolojisinde Maraş Dondurmasının Yeri ve Önemi, 1. Uluslar Arası “Adriyatik’ten Kafkaslar’a Geleneksel Gıdalar” Sempozyumu. 2010. Tekirdağ.
2. Z. Yıldırım, A. Özbey, N. Öncül, **A. Cingöz**. Applications of bacteriocins and bacteriocinogenic lactic acid bacteria in the dairy industry, International Food Congress Novel Approaches in Food Industry. 2011. İzmir.
3. **A. Cingöz**, Ş. Cingöz ve Y. Esin. Hurma Şekeri, 7. Gıda Mühendisliği Kongresi. 2011. Ankara.
4. D. Toksöz, N. Öncül, **A. Cingöz**, Z. Yıldırım ve M. Yıldırım. Keten Tohumu Protein Konsantrisinin Yoğurdun Bazı Nitelikleri Üzerine Etkisi, 7. Gıda Mühendisliği Kongresi. 2011. Ankara.